

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

34巻 1号 1972

原 著

倉橋昌司：カテコールアミン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果について …1

毛利元彦：体温維持における神経性体液性機構について 第1報 体温におよぼす
ACTH および 5-hydroxytryptamine 投与の影響について ……8

藤本 守，檜垣 鴻：急性代謝性アシドーシスにおけるインスリンおよびクロール
間隙の変動とクロールの分布について …… 16

西島博明，米本恭三，酒井敏夫：分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能に対する温度
および薬物の影響 …… 28

第41回近畿生理学談話会 …… 40

東京慈恵会脈管学研究所史 …… 47

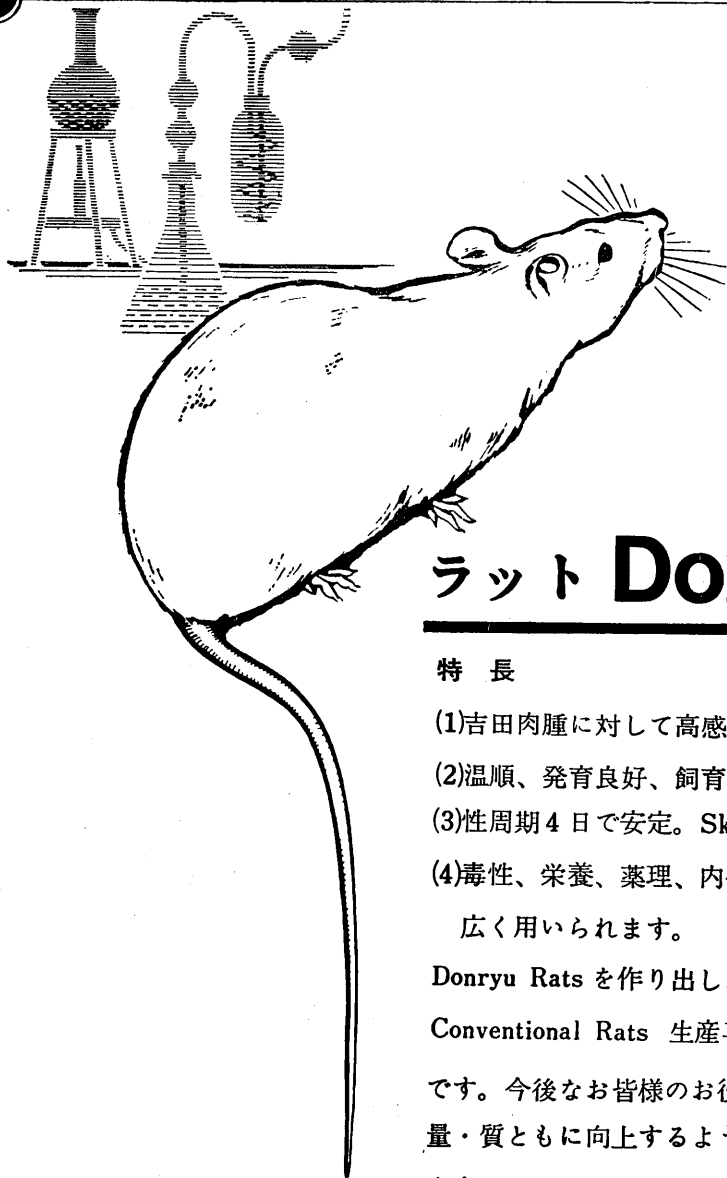
会 報 第6回 J. J. P. 編集委員会議事録 …… 51

昭和47年度 三菱財団自然科学研究助成応募要項 …… 51

ト
ウ
ズ

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



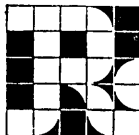
ラット **Donryu**

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 Graft 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〉〈Buffalo 〉



日 本 ラ ッ ト (株)

埼玉県浦和市根岸608-3

TEL(0488) 61-6850・6401

カテコールアミン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果について 612.444 : 612.452

倉 橋 昌 司 (東京薬科大学生理学教室)

Permissive effect of thyroid hormones on calorigenesis of catecholamines Masashi KURAHASHI (*Department of Physiology, Tokyo College of Pharmacy*)

This investigation was undertaken to clarify the mechanism of permissive effect of thyroid hormones on calorigenesis of catecholamines. In experiment, effect of catecholamine α , β -blocker and nicotinic acid on calorigenesis of catecholamines and theophylline, effect of thyroid hormones on calorigenesis of catecholamines and theophylline, and effect of non-protein diet and protein synthesis blocking agent on permissive effect of thyroid hormones were studied.

β -blocker and nicotinic acid blocked calorigenesis of catecholamines and theophylline, but effect of those agents on catecholamines was more completely than that on calorigenesis of theophylline.

Thyroidectomy reduced calorigenesis of catecholamines and theophylline, on the other hand thyroid hormones potentiated those calorigenesis. Non-protein diet had little effect on permissive effect of thyroid hormones on calorigenesis of catecholamines and theophylline, on the other hand protein synthesis blocking agent blocked permissive effect of thyroid hormones.

These results suggest the possibility that specific protein synthesis of thyroid hormones may play an important part in the permissive effect of thyroid hormones on calorigenesis of catecholamines.

[*J. Physiol. Soc. Japan* (1972) 34, 1-7]

key words : permissive effect, thyroid hormones, calorigenesis, catecholamines, protein synthesis.

I. 緒 言

Hsieh & Carlson²⁾³⁾ は寒冷適応時 non-shivering 熱産生において、甲状腺ホルモンとカテコールアミンが重要な役割を演じていることを報告している。また Swanson¹⁾ はカテコールアミン熱産生作用が十分発揮されるためには甲状腺ホルモンが必要であることを報告している。

一方倉橋⁶⁾⁷⁾ は甲状腺ホルモンの熱産生作用において、甲状腺ホルモンに特異な蛋白合成が重要な役割を果たしていることを指摘している。そこで本実験は、カテコールアミン熱産生作用におけるカテコールアミン受容体の種類および甲状腺ホルモンの permissive 効果を確認するとともにカテコールアミン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果が、甲状腺

ホルモンの特異蛋白合成に対する作用を介するものか否かを明らかにする目的で行なわれ、カテコールアミンおよび adenylyl cyclase 系において cyclic-AMP 分解酵素 phosphodiesterase 阻害によりカテコールアミン増強作用を持つといわれているテオフィリンの熱産生作用に対するカテコールアミン α および β -blocker, ニコチン酸の効果、甲状腺ホルモンのカテコールアミンおよびテオフィリン熱産生作用に対する permissive 効果、甲状腺ホルモンの permissive 効果に対する無蛋白食および蛋白合成阻害剤の効果を検討し、知見をえたので報告する。

II. 実験材料および方法

実験動物は雄性 Wistar 系ラットを用いた。甲状腺摘出は体重 100~130 g の時、外科的に行ない、摘出後 1 カ月以上経過したものを甲摘群として用いた。チロキシン投与群としては L-

チロキシン Na 100 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重を, 実験 C においては正常群に10回, 実験 FG においては甲

Table 1. Composition of diet

Diets	Carbohydrate	Protein	Fat
Non-protein diets	90.0 %	0.0 %	5.0 %
Protein diets	72.0	18.0	5.0
1. Harper's salt mix.		4 %	
2. Vitamin complex		1 %	
3. Choline chloride		0.15 %	
4. V. A	600 unit/100 g		
5. V. E	10 mg/100 g		

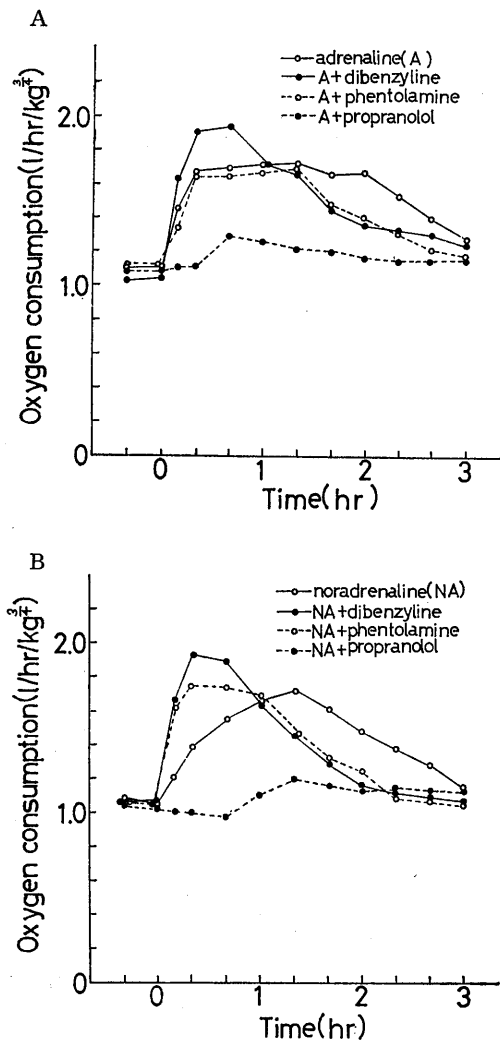


Fig. 1. Effect of α , β -blocker on calorigenesis of adrenaline (A) and noradrenaline (B).

摘群に5回連日腹腔内投与したものを用いた。アドレナリンおよびノルアドレナリンは実験 C において 40 μg および 80 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重筋肉内注射を用いたが, その実験では全て 40 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重を用いた。 α -blocker として dibenzylamine 500 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重皮下注射および phentolamine 500 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重皮下注射, β -blocker として propranolol 400 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重皮下注射, ニコチン酸は 5 mg/100 g 体重腹腔内注射を用い, カテコールアミンおよびテオフィリンと同時に投与した。蛋白合成阻害剤としてシクロヘキシド 250 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重腹腔内注射を用い, カテコールアミンおよびテオフィリン投与2時間前に投与した。テオフィリンは覚醒時およびウレタン (120 mg/100 g 体重筋肉内注射) 麻酔時ともに 6 mg/100 g 体重腹腔内注射を用いた。

実験 FG における蛋白食および無蛋白食は Table 1 に示す組成のものを用いた。

無蛋白食実験においては無蛋白食を1週間続けた後, さらに無蛋白食を続けながらチロキシン投与を行なった。無蛋白食実験以外は固型飼料 (オリエンタル酵母 KK 製 MF) を用いた。

酸素消費量は閉鎖式酸素消費量測定装置を用い, 室温 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ において測定した。

III. 実験結果

A. カテコールアミン熱産生作用に対する α および β -blocker の効果

β -blocker である propranolol は投与直後, アドレナリン (Fig. 1 A), ノルアドレナリン (Fig. 1 B) の熱産生作用を完全に阻止した。一方 α -blocker である dibenzylamine および phentolamine はカテコールアミン熱産生作用をむしろやや増強する傾向を示した。

B. カテコールアミン熱産生作用に対するニコチン酸の効果

ニコチン酸は投与直後, ノルアドレナリン (Fig. 2 B) の熱産生作用を完全に阻止した。一方アドレナリン (Fig. 2 A) に対しては明らかな阻止作用を示したが, ノルアドレナリンに対するほど完全ではなかった。

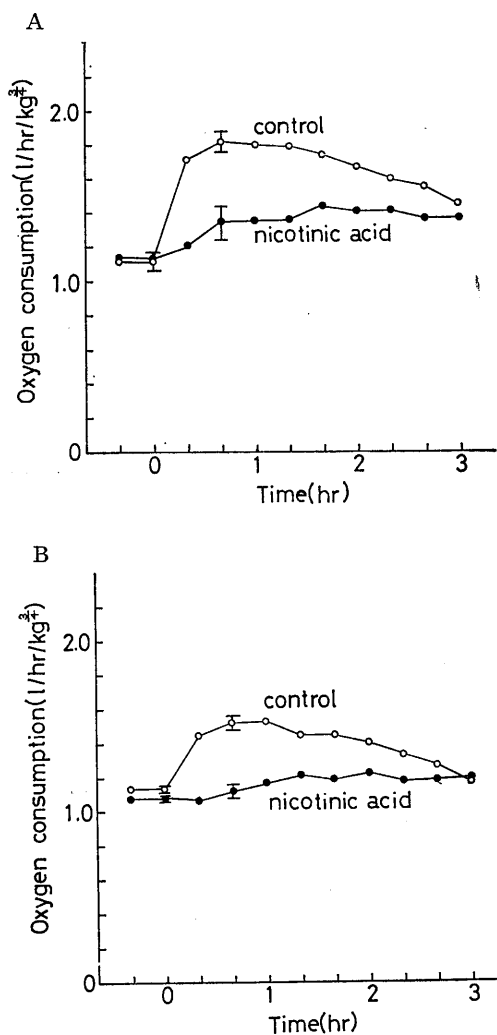


Fig. 2. Effect of nicotinic acid on calorigenesis of adrenaline (A) and noradrenaline (B).

C. カテコールアミン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの効果

甲状腺摘除群では正常群に比べ、明らかにアドレナリン (Fig. 3 A), ノルアドレナリン (Fig. 3 B) の熱産生作用が减弱した。一方チロキシソ投与群ではカテコールアミン熱産生作用増強の結果、最大の応答を示す以前に死亡した。

D. テオフィリン熱産生作用に対する β -blocker およびニコチン酸の効果

β -blocker, propranolol は覚醒時テオフィリン熱産生作用に対して、抑制の傾向を示したが

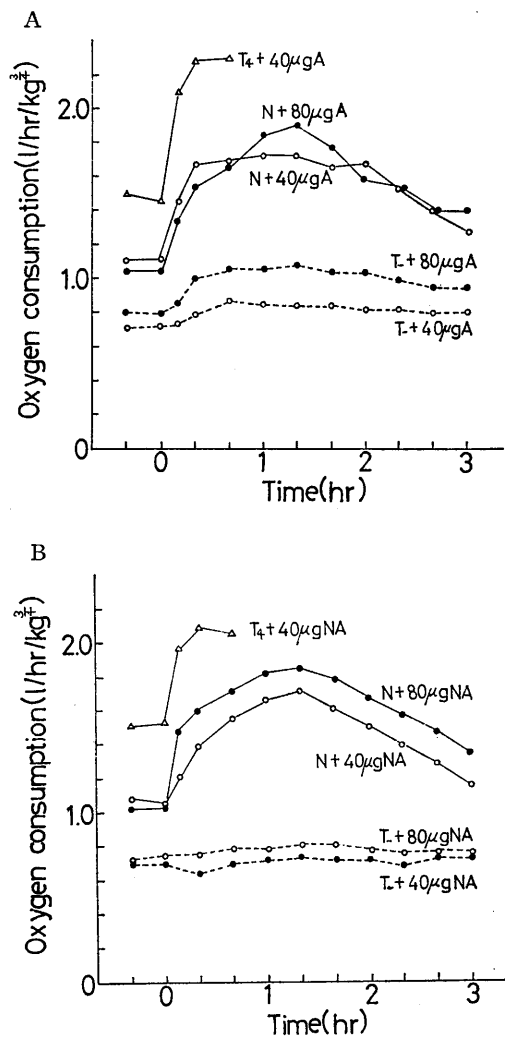


Fig. 3. Effect of thyroid hormones on calorigenesis of adrenaline (A) and noradrenaline (B). T₄ (thyroxine), N (normal), T₄-(thyroidectomy).

有意な差は見られなかった。一方ニコチン酸は有意な抑制効果を示した (Fig. 4 A).

Propranolol およびニコチン酸ともにウレタン麻酔時テオフィリン熱産生に対して有意な抑制効果を示したが、カテコールアミンに対するほど完全ではなかった (Fig. 4 B).

E. テオフィリン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの効果

甲状腺摘除群では覚醒時およびウレタン麻酔時ともに正常群に比べ、明らかにテオフィリン

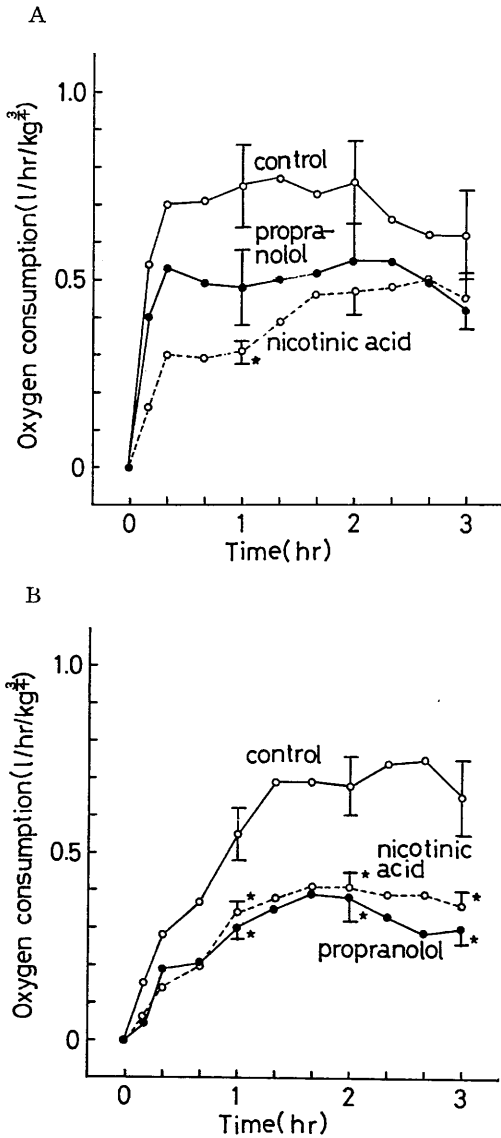


Fig. 4. Effect of β -blocker and nicotinic acid on calorigenesis of theophylline in awaked (A) and anesthetized (B) rats.

の熱産生作用は減弱した。特にウレタン麻醉時において、甲状腺摘除群ではほとんどテオフィリン熱産生作用は見られなかった (Fig. 5)。

F. ノルアドレナリン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果に対する無蛋白食および蛋白合成阻害剤の効果

無蛋白食は甲状腺ホルモンのノルアドレナリン熱産生作用に対する permissive 効果をむしろ

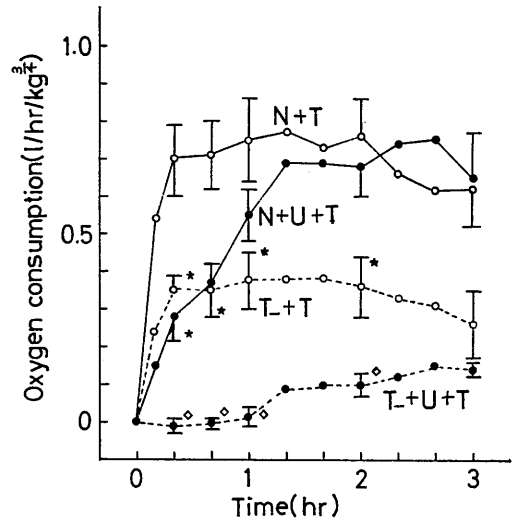


Fig. 5. Effect of thyroid hormones on calorigenesis of theophylline (T) in awaked (\circ) and anesthetized (\bullet) rats. N (normal), T₋ (thyroidectomy), U (urethane).

る助長した (Fig. 6 A)。一方、蛋白合成阻害剤シクロヘキシミドは甲状腺ホルモンの permissive 効果をほとんど完全に抑制した (Fig. 6 B)。

G. テオフィリン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果に対する無蛋白食および蛋白合成阻害剤の効果

ノルアドレナリン熱産生作用に対すると同様にテオフィリン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果に対して、無蛋白食はむしろこれを助長し (Fig. 7 A)、一方、蛋白合成阻害剤シクロヘキシミドはこれをほとんど完全に抑制した (Fig. 7 B)。

IV. 考 察

カテコールアミン熱産生作用はカテコールアミン β 受容体を介すること、またニコチン酸も β -blocker 同様に、カテコールアミン熱産生作用に対して抑制効果をもつことが確かめられた。Svedmyr⁹⁾ はカテコールアミン熱産生作用をカテコールアミンの熱産生機構への直接の作用の他に、アドレナリンの場合は乳酸惹起作用、ノルアドレナリンの場合は脂肪動員作用の加わった総合作用と考えているが、ニコチン

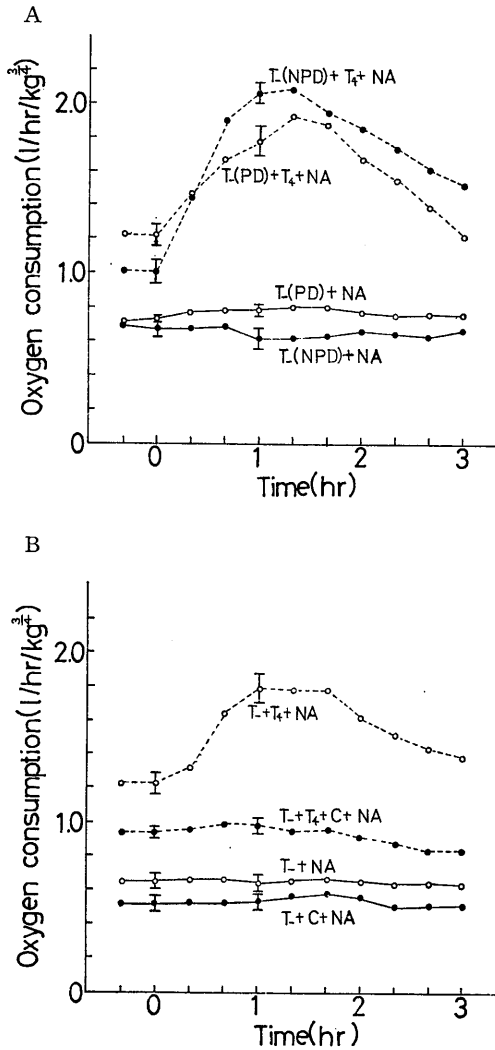


Fig. 6. Effect of non-protein diet (A) and protein synthesis blocking agent (B) on calorigenesis of noradrenaline. T₄ (thyroxine), T₋ (thyroidectomy), NA (noradrenaline), PD (protein diet), NPD (non-protein diet), C (cycloheximide).

酸の抑制作用がノルアドレナリンに比して、アドレナリンに対して弱いのは、ニコチン酸の乳酸惹起抑制作用の弱いためと考えられる。

甲状腺ホルモン欠如は明らかにカテコールアミン熱産生作用を減弱した。これは甲状腺ホルモン欠如がカテコールアミン乳酸惹起作用、脂肪動員作用、脂肪組織における熱産生作用を減弱したという Svedmyr¹⁰⁾, Krishna et al.⁵⁾,

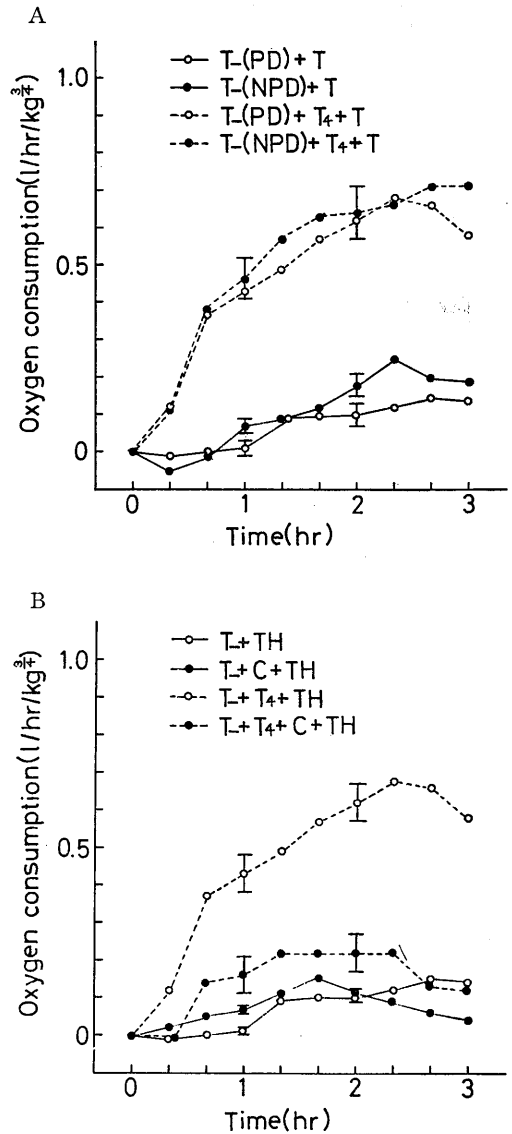


Fig. 7. Effect of non-protein diet (A) and protein synthesis blocking agent (B) on calorigenesis of theophylline. T₄ (thyroxine), T₋ (thyroidectomy), T (theophylline), PD (protein diet), NPD (non-protein diet), C (cycloheximide).

Ikemoto et al.⁴⁾ の報告と一致する。カテコールアミン blocker 実験の結果と考え合わせると、甲状腺ホルモン欠如はカテコールアミン β 受容体感受性低下を起こしたものと考えられる。

Blecher et al.¹⁾ により adenylyl cyclase 系

において、cyclic AMP 分解酵素 phosphodiesterase 阻害によりカテコールアミン増強作用を持つと言われているテオフィリン熱産生作用も、甲状腺ホルモン欠如により明らかに抑制された。これはカテコールアミンの作用の場を adenylyl cyclase 系と考えるならば、甲状腺ホルモンは cyclic AMP 合成酵素である adenylyl cyclase 活性および cyclic AMP の作用する場に影響するものと考えられる。

しかしながらテオフィリンの熱産生作用は、外的カテコールアミン作用を完全に阻止する propranolol およびニコチン酸によりある程度抑制されたが、カテコールアミンに対するほどこれらの薬物の抑制効果は完全でなかった。これは生理的な条件では adenylyl cyclase 系において、cyclic AMP 分解が律速である可能性と、テオフィリンの adenylyl cyclase 系を介さない直接作用の可能性を示唆する。

Novotny & Vyskocil⁸⁾によると、テオフィリンの誘導体であるカフェインは骨格筋小胞体に直接作用し、小胞体からのカルシウムイオン遊離とともに熱産生を起こすというが、これは甲状腺ホルモンのテオフィリン熱産生に対する permissive 効果の作用機序として、adenylyl cyclase 系を介するもの以外に、甲状腺ホルモンの骨格筋代謝への作用を介する機序の存在を示唆する。甲状腺中毒症に見られるクレアチン尿、筋無力症類似の症状、また甲状腺ホルモンが重要な役割を演じていると考えられている寒冷適応時 non-shivering 熱産生を考えると、甲状腺ホルモンのテオフィリン直接作用に対する permissive 効果も興味ある問題である。

無蛋白食はノルアドレナリンおよびテオフィリン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果にほとんど影響を与えなかった。一方蛋白合成阻害剤シクロヘキシミドは甲状腺ホルモンの permissive 効果を抑制した。これは甲状腺ホルモンの permissive 効果が甲状腺ホルモンの特異蛋白合成を介し、カテコールアミン β 受容体感受性を増強させるものであることを示唆する。甲状腺ホルモンの特異蛋白

として adenylyl cyclase, cyclic AMP の作用する酵素、ミトコンドリア酸化リン酸化の律速因子となる蛋白、またテオフィリン実験から推測される骨格筋小胞体のカルシウムイオン遊離に関与する蛋白などが考えられるが、さらにこの点についての検討が必要と考えている。

V. 要 約

カテコールアミンおよびテオフィリンの熱産生作用に対するカテコールアミン α および β -blocker, ニコチン酸の効果、甲状腺ホルモンのカテコールアミンおよびテオフィリン熱産生作用に対する permissive 効果、甲状腺ホルモンの permissive 効果に対する無蛋白食および蛋白合成阻害剤の効果を検討した結果、カテコールアミン熱産生作用に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果は、甲状腺ホルモンの特異蛋白合成を介し、カテコールアミン β 受容体感受性を増強させるものであることが示唆された。またテオフィリン熱産生に対する甲状腺ホルモンの permissive 効果は、adenylyl cyclase 系を介するもの以外に、甲状腺ホルモンの骨格筋代謝への作用を介する機序によるものであることが示唆された。

本研究の一部は昭和45年度文部省科学研究費補助金(奨励研究A)によった。また本論文要旨は第48回日本生理学会総会において発表した。

文 献

- 1) Blecher, M., Merlino, N. S. & Ro'Ané, J. T. (1968) Control of the metabolism and lipolytic effects of cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate in adipose tissue by insulin, methylxanthines, and nicotinic acid. *J. Biol. Chem.*, **243**, 3973-3977
- 2) Hsieh, A. C. L. & Carlson, L. D. (1957) Role of adrenaline and noradrenaline in chemical regulation of heat production. *Am. J. Physiol.* **190**, 243-246
- 3) Hsieh, A. C. L. & Carlson, L. D. (1957) Role of the thyroid in metabolic response to low temperature. *Am. J. Physiol.* **188**, 40-44
- 4) Ikemoto, H., Hiroshige, T. & Itoh, S. (1967) Oxygen consumption of brown adipose tissue in normal and hypothyroid mice. *Jap. J. Physiol.* **17**, 516-522

- 5) Krishna, G., Hynie, S. & Brodie, B. B. (1968) Effects of thyroid hormones on adenylyl cyclase in adipose tissue and on free fatty acid mobilization. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **59**, 884-889
- 6) 倉橋昌司 (1970) ラットの酸素消費量と窒素代謝に対するチロキシン連続投与の効果. *日本生理誌* **32**, 521-524
- 7) 倉橋昌司 (1970) 甲摘およびチロキシン投与ダイコクネズミの酸素消費量に対するシクロヘキシミドの効果. *医学のあゆみ* **73**, 225-226
- 8) Novotny, I. & Vyskocil, F. (1967) Possible role of Ca ions in the resting metabolism of frog sartorius muscle during potassium depolarization. *J. Cell. Physiol.*, **67**, 159-168
- 9) Svedmyr, N. (1966) Studies on the mechanism for the calorogenic effect of adrenaline in man. *Acta physiol. scand.* **68**, 84-95
- 10) Svedmyr, N. (1966) The influence of thyroxine treatment and thyroidectomy on the calorogenic and some other metabolic effects of adrenaline and noradrenaline in experiments on fasted rabbits. *Acta. physiol. scand.* **66**, 257-268
- 11) Swanson, H. E. (1956) Interrelations between thyroxin and adrenalin in the regulation of oxygen consumption in the albino rat. *Endocrinology.* **59**, 217-225



体温維持における神経性、体液性機構について 612.53 : 612.014.469
第1報 体温におよぼす ACTH および 5-hydroxytryptamine
投与の影響について

毛利 元彦 (横浜市立大学医学部第二生理学教室)

**Study on the neurohumoral mechanism of the thermoregulation :
Effects of ACTH and 5-hydroxytryptamine upon the body temperature**

Motohiko MOHRI (*Department of Physiology, Yokohama City University School of Medicine*)

Effects of 5-hydroxytryptamine (5-HT), TSH, adrenaline and noradrenaline upon the body temperature were investigated. These substances were administered intravenously or subcutaneously to the New Zealand white rabbits (female).

Results are as follows ;

1. 5-HT administration (20 γ /kg, i. v.) raised the body temperature of the rabbits which had been exposed to extreme cold (-20°C) repeatedly, but it failed to raise the body temperature when the rabbit was not exposed to extreme cold.

2. When 5-HT was injected, preceded by ACTH treatment (0.1 μ /whole body, i. v.), body temperature raised significantly. In contrast, when 5-HT was followed by ACTH, body temperature did not change.

3. When adrenaline (20 γ /kg, i. v.) was injected, preceded by ACTH, body temperature raised less significantly than when 5-HT was preceded by ACTH.

4. Body temperature fell when adrenaline and 5-HT were injected simultaneously. Noradrenaline (20 γ /kg, i. v. or s. c.) and 5-HT injected simultaneously raised the body temperature significantly.

5. Body temperature did not change when 5-HT was injected following to TSH treatment (0.25 μ /whole body, i. v.).

These results suggest that 5-HT has a cooperative function with ACTH, in terms of the thermoregulatory mechanism of the rabbits.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1972) 34, 8-15〕

key words : 5-hydroxytryptamine, ACTH, body temperature, thermoregulatory mechanism.

I. はじめに

寒冷環境曝露によって ACTH および TSH (Brown-Grant & Pethes⁸⁾, D'Angero et al.¹²⁾, Jobin & Fortier²⁸⁾) の分泌が増加することが報告されている。一方、われわれは一定期間の寒冷環境を経たウサギに 5-hydroxytryptamine (5-HT) 投与によって著明に体温が上昇することを認めた (川上と毛利³¹⁾)。しかし、この一定期間の寒冷環境を経ないウサギに 5-HT を投与した場合、体温の上昇は認められなかった。したがって前者の変化は寒冷環境馴化に伴って起こった体液性因子と 5-HT との協関関係に基づ

いた変化かと考えた。そこで体液性因子として寒冷刺激によって分泌されるホルモンと 5-HT との協関関係を追究し、ACTH 前処置に 5-HT の投与によって体温が著明に上昇するという興味ある事実をえたので報告する。

II. 実験材料および方法

実験動物には 2.8~3.5 kg のニュージージーランド種成熟白色ウサギ64羽を用いた。ウサギの飼育環境は 5:00~19:00までの明環境, 19:00~翌朝 5:00までの暗環境の人工照明下, 室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の環境下で飼育し, 飼料は固形飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社製 RC-5) を使用した。 -20°C の反復寒冷環境曝露には人工気候室 (小糸製作所製) を使用し, 連日12時間の曝

露を行なった(常温状態下とは室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ の動物飼育環境温度をいう)。また夏季とは6月~8月までのことである。薬物として5-hydroxytryptamine (5-HT) (和光純薬製), ACTH (第一製薬 NO 574832, Armour 製, Lot. NO E 91705), TSH (Armour 製 Lot. NO C 8607), adrenaline (第一製薬製), noradrenaline (三共製) をウサギの耳静脈ないし皮下に投与し, その前後の体温(直腸温)をへの字型無留点式直腸温度計で留点が一定になるまで30~40秒間直腸に挿入し計測した。また5-HT投与における体温の変動には種による違いがあることが報告されている。(Fastier et al.²³), Lessin & Perkes³³), Hoffman²⁵), Shemano & Nickerson³⁸), Bächtold & Pletscher⁴), Horita & Gogerty²⁶), Feldberg & Myers¹⁵)¹⁶), Feldberg et al.¹⁷), Allen & Marley¹), Cooper et al.¹⁰), Bligh⁵), Andersson et al.³), Findlay & Robertshaw²¹), Feldberg et al.¹⁸), Feldberg & Lotti¹⁹), Bligh & Cottle⁶), Toivola & Gale³⁹)。ウサギにおいて5-HTの脳室内投与によって体温が下降あるいは変化がないという結果がえられているし⁶)¹⁰), また静脈内投与によって体温が上昇した報告もある⁴)²⁶)。他方, 5-HTの体温におよぼす作用は, その投与時の体温の高低によっても反応態度が異なることが知られている¹¹)。そこで本実験では投与時の体温はほぼ $39.1 \sim 39.8^\circ\text{C}$ の間のウサギを使用した。

III. 実験結果

ウサギに5-HT (20 γ /kg. i. v.) を投与すると投与後安静姿勢を示してから2~3分以内に徐波化の傾向を示し, ついで sleep spindle bursts の出現を認めた。この sleep spindle bursts を含む EEG パタンの出現の持続はおよそ20~30分間であって, その間に数秒間続く arousal パタンが4~7回程混入するのを認めた。0.9% 生理的食塩水を投与しても上記と同様の結果がえられたが, sleep spindle bursts の出現は5-HT投与例の方がわずかながら長い傾向が認められた。5-HT投与例でも非投与

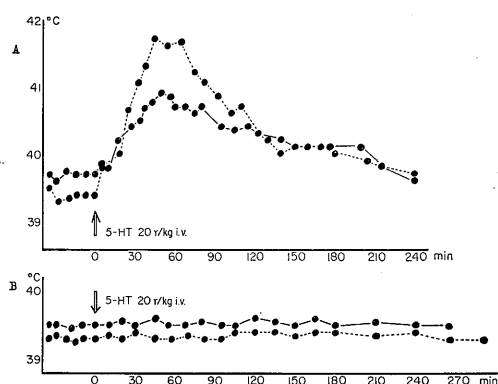


Fig. 1. Effect of 5-HT on the body temperature. A: The change in the body temperature after the administration of 5-HT in the normal condition ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) after repeated exposure to cold (-20°C) 12 hours per day. B: Control.

例²⁹)でも, 徐波化の発現および sleep spindle bursts の出現までの時間に有意な差は認められなかった。

ウサギの体温の日内リズムは, 大方朝夕(3~6時)に最高となり, 夕刻より夜半(7~11時)にかけて最低となる傾向を示し, 日差はほぼ 0.2°C 以内のウサギが大部分である。少数例において体温の動揺の大きいウサギ($0.3 \sim 0.5^\circ\text{C}$)も存在したが実験時間(8:00~18:00)内で体温の動揺は 0.4°C 以内であったので 0.4°C 以上をもって体温の上昇と考えた。

A. 5-HT 単独投与の影響

1. 夏季に -20°C の連続寒冷曝露したウサギに常温状態で5-HT 20 γ /kg 静脈内投与したところ7羽中全羽に投与後より体温は著明に上昇し, 投与後40分ないし70分で最大 $0.5 \sim 1.7^\circ\text{C}$ の体温の上昇がおこり, 以下漸時低下し, 投与後3~4時間で投与前レベルにほぼ全羽とも戻った (Fig. 1-A)。

2. 常温状態で5-HT (20 γ /kg および 200 γ /kg i. v.) を四季を通じて投与しても上記のような体温上昇は認められず有意な体温変動を示さなかった (Fig. 1-B)。

B. ACTH 単独投与の影響

ACTH 2.0 u 静脈内投与すると6羽について投与直後より体温は下降し, ほぼ60~90分後に

最も低下 (0.2~0.6°C 低下) を示した後に上昇し、投与前レベルを超えて体温は上昇し、投与後 150 分後に最大 0.4~0.7°C に達する二相性の体温変動を示した。この変化の傾向は先きに著者らの発表した結果と類似している (Kawakami et al.³⁰) (Fig. 2-A).

ACTH 0.1 u 静脈内投与すると 12 羽中 9 羽では有意な体温変動が認められなかった (Fig. 2-

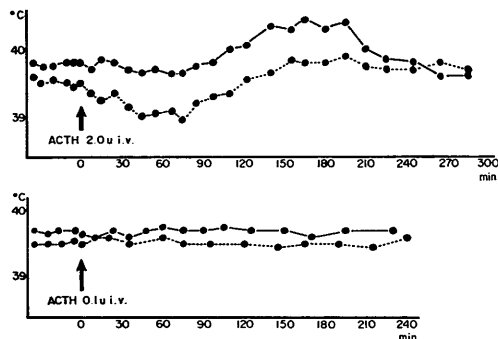


Fig. 2. The change in body temperature after administration of ACTH 2.0 u/whole body, i. v., (upper); and 0.1 u/whole body, i. v. (lower).

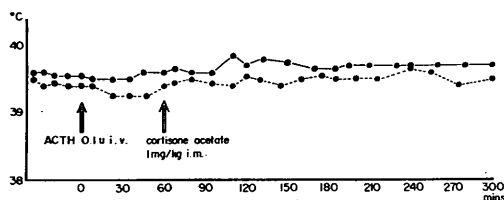


Fig. 3. Effect of ACTH (0.1 u/whole body, i. v.) followed by cortisone acetate (1 mg/kg, i. m.) on the body temperature.

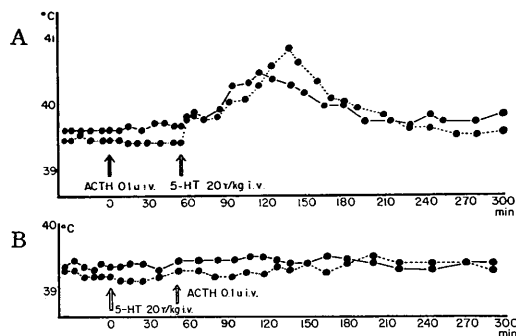


Fig. 4. Effect of 5-HT (20 γ /kg, i. v.) on the body temperature preceded by ACTH (0.1 u/whole body, i. v.) (A), and followed by ACTH (B).

B). しかしながら残り 3 羽中 1 羽は上記 ACTH 2.0 u 投与例と同じく二相性の体温変動を示した。他の 2 羽は投与後 30~40 分頃より体温上昇が始まり、投与後 80 分前後で最大 0.5~0.7°C の一相性の体温上昇を示し、その後漸時低下し、投与前レベルに戻った。

ACTH 0.1 u を前処置として、投与後に cortisone acetate 1 mg/kg 筋肉内に投与しても 4 羽中全羽に有意な体温変動を示さなかった (Fig. 3).

C. ACTH 前処置ウサギに対する 5-HT および adrenaline 投与の影響

先きに ACTH 単独投与の影響の項で述べた如く、ACTH 0.1 u 単独投与でほとんど体温の変動のみられなかった 9 羽に ACTH 0.1 u 投与後に 5-HT (20 γ /kg, i. v.) を投与すると、5-HT 投与後より体温は漸時上昇し、投与後 50~90 分で著しい上昇 (最大 0.6~1.4°C) を示し、その後漸時低下し、投与後 3~4 時間でほぼ投与前レベルに戻る一相性の体温変動を示した。これは I の A に記載した 1 群でえられた結果と同様であった。勿論この群では ACTH 0.1 u 投与後より 5-HT 投与の間に有意な体温変動は全例に認められなかった (Fig. 4-A).

逆にこの 1 群に 5-HT 前処置し、その後 ACTH (0.1 u/body weight) 静脈内に投与しても上記に認められるような一相性の体温変動は示さず、6 羽中 6 羽ともほとんど変化が認められなかった (Fig. 4-B).

また ACTH 0.1 u 前処置後に adrenaline 20 γ /kg 皮下投与すると、投与直後より 20~30 分で 0.2~0.4°C の体温上昇を示したが、投与後 60 分でほぼ投与前レベルに戻った (Fig. 5).

D. TSH 単独投与および TSH 前処置ウサギに対する 5-HT 投与の影響

常温環境下で TSH 0.25 u/body weight 静脈内投与して、投与後 6 時間にわたり有意な体温変動を 6 羽中全羽とも示さなかった (Fig. 6-B). しかしながらさきに著者ら³⁰が報告したごとく、TSH 0.4 u/kg 静脈内投与では体温は直ちに上昇し、投与後 30~60 分で投与前より 0.5~

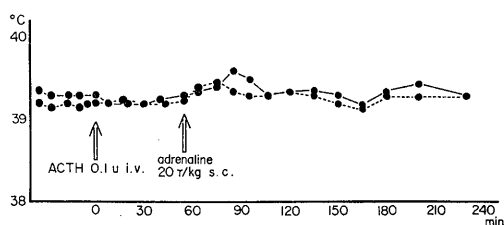


Fig. 5. Effect of adrenaline (20 γ /kg, s. c.) on the body temperature preceded by ACTH (0.1 u/whole body, i. v.).

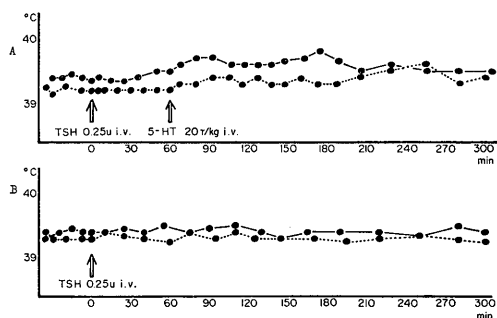


Fig. 6. A: Effect of TSH administration followed by 5-HT (20 γ /kg, i. v.) on the body temperature. B: Effect of TSH (0.25 u/whole body, i. v.) on the body temperature.

1.0°C 上昇した。しかし回復経過は 14~20 時間の長時間を要した。TSH 0.25 u/B. W. 単独投与群に TSH 前処置として、TSH 0.25 u/B. W. 投与後に 5-HT (20 γ /kg, i. v.) 静脈内投与すると体温は軽微な上昇傾向を示したが、6 時間にわたり体温変化を追求しても有意な変動は認められなかった (Fig. 6-A)。

E. Adrenaline 皮下投与と 5-HT 静脈内同時投与の影響

先きに著者らが報告した如く、adrenaline (20 γ /kg) 静脈内投与では体温に変動を示さなかった。しかし皮下投与すると体温は上昇した (Kawakami et al.^{30)35)。そこで本実験では adrenaline の皮下投与と同時に 5-HT (20 γ /kg) を静脈内投与すると体温は下降の傾向を投与直後より示し、投与後 30 分ではほぼ 0.3~0.4°C 低下し、漸時上昇して投与前レベルを越え、その後低下し、投与後 4~6 時間で投与前レベルに戻った例が 6 羽中 5 羽存在したが、残りの}

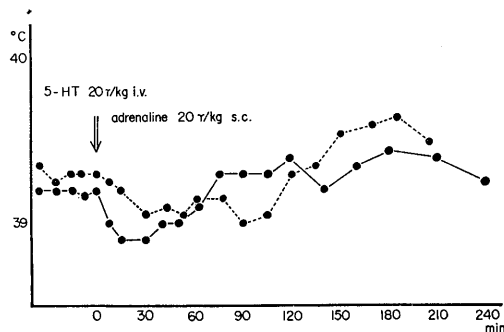


Fig. 7. Effect of 5-HT (20 γ /kg, i. v.) and adrenaline (20 γ /kg, s. c.) administered simultaneously on the body temperature.

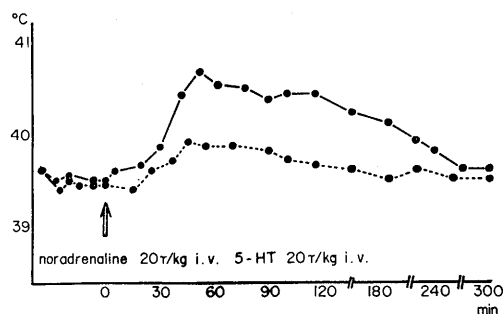


Fig. 8. Effect of 5-HT (20 γ /kg, i. v.) and noradrenaline (20 γ /kg, i. v.) administered simultaneously on the body temperature.

1 羽は有意な体温変動を示さなかった (Fig. 7)。

F. Noradrenaline 単独投与および noradrenaline と 5-HT 同時投与の影響

A. 1 で述べた環境をへた動物に noradrenaline を 20 γ /kg を皮下に投与しても、5-HT 投与例と異なり有意な体温変動を示さなかった。また四季にわたり noradrenaline を皮下に投与してもほとんど有意な体温は示さなかった。しかしながら、noradrenaline 20 γ /kg を静脈内投与すると投与後 20~40 分の潜時において体温は急激に上昇し、投与後 45~60 分で最大 (0.7~1.0°C) に達し、以後漸時低下し、投与後 2.5~4 時間で投与前レベルに戻る一相性の体温変動を示した。また、noradrenaline 20 γ /kg と 5-HT 20 γ /kg を同時に静脈内に投与すると 5 羽中全例に投与直後より体温は上昇し始め、投与後 45~70 分で著しい上昇が起こり最大 (0.5~1.2°C) の体温上昇を示し、数十分間そ

のレベルを維持し、以漸時低下し、投与後4～5時間でほぼ投与前レベルに戻った。

Ⅳ. 考 察

一定期間にわたり異常寒冷環境を経たウサギに、5-HT を単独投与、または ACTH 前処置後に5-HT を投与すると、体温は何れの場合も5-HT 投与直後より漸時上昇し、著明な一相性の体温変動を示した。この事実は、動物が異常環境を経たことによって5-HT に対する生体反応の態度に変化が認められるようになったと考えられる。すなわち、異常環境を経た動物がストレス刺激によって ACTH の分泌促進 ACH の増加をもたらす、この状態においてはじめて単独投与では変化のなかった5-HT によって著明な体温上昇をもたらすものと考えられる。これらの変化は ACTH と5-HT との直接協働作用に基づくものであるか、あるいは ACTH によって血中に放出された特定の皮質ホルモンとの協働作用によるものであろう。しかし、本実験から5-HT 前処置したウサギに ACTH を投与しても体温の変動を示さないという結果をえている。また、5-HT 投与によって ACTH の分泌が促がされることが知られている (Mousatche & Alvares-Pereira³⁴), Fischer et al.²²), Sapeika³⁷)。したがってこれらの事実から、さきに述べた体温の上昇は、単に ACTH の血中増加によってもたらされたのではないことが想像される。さらに ACTH 前処置によって血中に増加した ACH と5-HT との協働作用によって上記の変化が誘起されたとも考えられるが、これは本実験において cortisone acetate の前処置したものに5-HT を投与しても体温が上昇を示さないことから考えにくい。しかし他の副腎皮質ホルモンとの相関作用によって起こる可能性も残っている。

他方、寒冷曝露によって ACTH と TSH も増加分泌される⁸⁾¹²⁾²⁸) ことは周知の事実である。しかし本実験において TSH 前処置後に5-HT を投与しても体温変動を示さなかった事実から、TSH と5-HT との協働関係はないもの

と考えられる。

5-HT 投与によって Andersson ら³⁾, Bligh & Cottle⁶⁾ は末梢血管の拡張と体温の下降を報告している。ACTH 前処置後に5-HT を投与すると体温は上昇すると同時に末梢血管(耳静脈)の拡張が認められた。これは血管の拡張によって放熱が促進され、体温が低下するという現象とは相違する。しかし、たとえば adrenaline 投与によって末梢血管は一時収縮し、体温の上昇が起こるが、それに引き続いて末梢血管の拡張がおこり、放熱が促進されることがある。したがってこれと類似の現象と解することもできる。しかし、5-HT の体温におよぼす影響と血管の収縮、拡張に対する効果は、動物の種による相違もあり、本実験において、いずれの因子によって5-HT 投与によって体温が上昇するかは明らかではない。

一般に adrenaline, noradrenaline, 5-HT は相対的に視床下部に高濃度に含まれていること、ならびにこれらの物質が体温調節に重要な役割を演じていることが知られている (Amin et al.²⁾, Vogt⁴⁰), Brodie & Shore⁷⁾, Euler¹⁴)。

ウサギでは adrenaline, noradrenaline 投与では体温の上昇が認められている (根来³⁵), Cooper et al.¹⁰)。Cooper や本実験において、5-HT を脳室内、静脈内に単独投与しても体温が変化しなかった。しかし、Cooper らは pyrogen または noradrenaline の投与によって体温の上昇が引き起こされた状態において、視床下部前部に微量の5-HT を投与すると体温の低下が起こることを認めており、本実験においても ACTH 前処置後に5-HT を投与すると体温の上昇が起こることを認めている。これら両者の結果から、投与前の体温のレベルのみならず5-HT 投与前における動物の内部環境状態とくに生体内における ACTH, その他現在未知の物質の5-HT 投与前の血中レベルにも関係あると考えられる。しかもその体温上昇の効果は末梢性に働いた可能性も本実験からは否定できないが、中枢性に体温調節中枢に働いた結果とも考えられる。すなわち、われわれが先きに報

告した³⁰⁾如く、脳局所の電気刺激および寒冷環境下における脳波活動記録の上昇した諸部位のうちの一部の部位の脳波活動が、ACTH 前処置後に 5-HT 投与によってその脳波活動が上昇したことから上記現象には中枢性の作用を介しての働きをも考慮しなければならないであろう。いづれにもとづくにせよ、ACTH と 5-HT との協関的働きが体温上昇せしめることは興味深い事実であり、今後、耐寒性獲得機序解明の一端となるものと思われる。

5-HT と noradrenaline の同時投与では体温の上昇を示した。これは monoamine oxidase inhibitor の一つである tranlycypromine の脳室内投与によって 5-HT の産生が増加し、体温が上昇したという報告 (ElHawary et al.¹³⁾、また tranlycypromine 投与後に noradrenaline を投与すると体温が著明に上昇するという報告 (Feldberg & Lotti²⁰⁾) と一致している。また 5-HT と adrenaline との同時投与によって体温が低下した。しかし adrenaline 単独では体温は上昇し、5-HT 単独では変化が認められなかった。これらの事実からわれわれは、5-HT が adrenaline の作用を強く抑制し、noradrenaline に対しては促進させるような interaction があるものと想像する。

また vasopressin が ACTH の放出促進作用⁹⁾をもつということが知られている。そこでわれわれも vasopressin を静脈内に投与したがほとんど有意な体温変動を示さなかった (川上ら³²⁾)。また vasopressin は体温を低下させるという報告 (奥野³⁶⁾) もある。それゆえに本実験において体温上昇作用におよぼす有力な因子ではないものと考えられる。

V. ま と め

1. 反復寒冷刺激を一定期間経たウサギに 5-HT 投与によって著明な体温上昇を示したが、この条件を経ないウサギに 5-HT を投与しても体温は変化しなかった。

2. ACTH を前処置後に 5-HT を投与すると著明な体温の上昇が認められた。他方、5-

HT を前処置後に ACTH を投与しても体温は変化しなかった。また ACTH を前処置後に adrenaline を投与すると投与後に体温の上昇傾向を示したが 5-HT 投与ほど著明な体温上昇ではなかった。

3. TSH 前処置後に 5-HT を投与しても体温の変化は認められなかった。

4. Adrenaline と 5-HT を同時に投与すると体温は下降の傾向を示した。

5. Noradrenaline と 5-HT を同時投与すると体温は著明な上昇を示した。

以上の結果から生体における内的因子、特に ACTH とその他の物質と 5-HT との協関作用が存在することが示唆された。

おわりに本研究の御指導、御校閲を賜りました川上正澄教授に深く感謝いたします。また終始適切な助言、御鞭撻を賜りました瀬戸勝男助教授、寺沢 瑩講師、山岡貞夫博士ならびに当教室の皆様篤く御礼申し上げます。本研究の遂行にあたり御協力をいただいた望月孝義、友田 忍の諸兄に心より感謝の意を表します。

本研究は文部省科学研究費 (特定研究「生物圏の動態」耐熱性、耐寒性の分析とその測定法, 1969, 1970). (一般研究 (B), 異常環境下における視床下部-下垂体の活動リズムの変化とその順応過程に関する研究 (ヒトおよび動物について, 1970) の補助によって行なわれた。

文 献

- 1) Allen, D. L. & Marley, E. (1966) Action of amines on temperature in the chicken. *J. Physiol.* **183**, 61-62
- 2) Amin, A. H., Crawford, T. B. B. & Gaddum, J. H. (1954) The distribution of substance P and 5-hydroxytryptamine in the central nervous system of the dog. *J. Physiol.* **126**, 596-618
- 3) Andersson, B., Jobin, M. & Olsson, K. (1966) Serotonin and temperature control. *Acta Physiol. scand.* **67**, 50-56
- 4) Bächtold, H. & Pletscher, A. (1957) Einfluss von Isonikotinsäure hydraziden auf den Verlauf der Körpertemperatur nach Reserpin, Monoaminen und Chlorpromazin. *Experientia* **13**, 163
- 5) Bligh, J. (1966) Effects on temperature of monoamines injected into the lateral ventricles of sheep. *J. Physiol.* **185**, 46-47
- 6) Bligh, J. & Cottle, W. H. (1969) Influence of ambient temperature on thermoregulatory res-

- ponses to intraventricularly injected monoamines in sheep, goats and rabbits. *Experimentia*, **25**, 608-609
- 7) Brodie, B. B. & Shore, P. A. (1957) A concept of the role of serotonin and norepinephrine as chemical mediators in the brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **66**, 631-642
 - 8) Brown-Grant, K. & Pethes, G. (1960) The response of the thyroid gland of guinea pig to stress. *J. Physiol.* **151**, 40-50
 - 9) Casentini, S., De Poli, A., Hukovic, S. & Martini, L. (1959) Studies of the control of corticotropin release. *Endocrinology* **64**, 483
 - 10) Cooper, K. E., Cranston, I. & Honour, A. J. (1965) Effects of intraventricular and intrahypothalamic injection of noradrenaline and 5-HT on body temperature in conscious rabbits. *J. Physiol.* **181**, 852-864
 - 11) Cranston, W. I. & Rosendorff, C. (1967) Central temperature regulation in the conscious rabbit after monoamine oxidase inhibition. *J. Physiol.* **193**, 359-373
 - 12) D'Angels, S. A. (1960) Hypothalamus and endocrine function in persistent estrous rat at low environmental temperature. *Am. J. Physiol.* **199**, 701-706
 - 13) El-Hawary, M. B. E., Feldberg, W. & Lotti, V. J. (1966) Monoamine oxidase inhibition: Effect on 5-hydroxytryptamine output from perfused third ventricle and body temperature. *J. Physiol.* **188**, 131-140
 - 14) Euler, C. V. (1961) Physiology and Pharmacology of temperature regulation. *Pharmac. Rev.* **13**, 361-398
 - 15) Feldberg, W. & Myers, R. D. (1963) A new concept of temperature regulation by amines in the hypothalamus. *Nature* **200**, 1325
 - 16) Feldberg, W. & Myers, R. D. (1964) Effects on temperature of amines injected into the cerebral ventricles: A new concept of temperature regulation. *J. Physiol.* **173**, 226-237
 - 17) Feldberg, W., Hellon, R. F. & Myers, R. D. (1966) Effects on temperature of monoamines injected into the cerebral ventricles of anaesthetized dogs. *J. Physiol.* **186**, 416-423
 - 18) Feldberg, W., Hellon, R. F. & Lotti, V. J. (1967) Temperature effects produced in dogs and monkeys by injections of monoamines and related substances into the third ventricle. *J. Physiol.* **191**, 501-515
 - 19) Feldberg, W. & Lotti, V. J. (1967) Temperature changes produced in the anaesthetized rat by monoamines and tranlycypromine injected into the cerebral ventricles. *J. Physiol.* **191**, 35-36
 - 20) Feldberg, W. & Lotti, V. J. (1967) Body temperature responses in cats and rabbits to the monoamines oxidase inhibitor tranlycypromine. *J. Physiol.* **190**, 203-220
 - 21) Findlay, J. D. & Robertshaw, D. (1967) The mechanism of body temperature changes induced by intraventricular injections of adrenaline, noradrenaline, and 50-hydroxytryptamine in the ox (*Bos taurus*). *J. Physiol.* **189**, 329-336
 - 22) Fischer, P., Renson, J. et Ciccarone, P. (1959) Effects de la 5-hydroxytryptamine sur la surrenale du rat normal, morphine du nouveaune. *Arch. int. Physiol. et Biochem.* **67**, 147
 - 23) Fastier, F. N., Speden, R. N. & Wall, H. (1957) Production of chloral hydrate sleeping time by 5-hydroxytryptamine and by certain other drugs. *Brit. J. Pharmacol.* **12**, 251-256
 - 24) Hoffman, R. A. (1958) Effect of and interaction between tranquilizers, serotonin and lysergic acid diethylamide on the body temperature of pigeons. *Am. J. Physiol.* **195**, 751-754
 - 25) Hoffman, R. A. (1958) Temperature response of the rat to action and interaction of chlorpromazine, reserpine and serotonin. *Am. J. Physiol.* **195**, 755-758
 - 26) Horita, A. & Gogerty, J. H. (1958) The pyretogenic effect of 5-hydroxytryptophan and its comparison with that of LSD. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **122**, 195-200
 - 27) Itoh, S. (1962) ACTH content in the pituitary gland in rats under conditions of dehydration and heat exposure. *Jap. J. Physiol.* **12**, 257
 - 28) Jobin, M. & Fortier, C. (1965) Pituitary-thyroid-adrenocortical interactions during cold exposure in the rat. *Fed. Proc.* **24**, 149
 - 29) Kawakami, M., Negoro, H. & Takahashi, T. (1966) Neuropharmacological studies on the mechanisms of paradoxical sleep in the rabbit. *Jap. J. Physiol.* **16**, 667-683
 - 30) Kawakami, M., Negoro, H., Yanase, M. & Mohri, M. (1969) The study on the activity of the hypothalamus and the limbic system under extreme cold. *Jap. J. Physiol.* **19**, 609-631
 - 31) 川上正澄, 毛利元彦 (1970) Serotonin と体温変動. 第10回耐熱性, 耐寒性の分析とその測定法の協議会記録
 - 32) 川上正澄, 毛利元彦; 未発表
 - 33) Lessin, A. W. & Parkes, M. W. (1957) The hypothalamic and sedative action of reserpine in the mouse. *J. Pharm. Pharmacol.* **9**, 657
 - 34) Moussatche, H. & Alvares-Pereira, N. (1957) Release of adrenocorticotrophin by 5-hydroxytryptamine. *Acta Physiol. lat. amer.* **7**, 71-75
 - 35) 根来英雄 (1968) 寒冷曝露時の辺縁系, 視床下部の

- 活動に関する研究 第2報：辺縁系視床下部電気刺激の体温に及ぼす影響に関する内分泌学的研究. 横浜医学 **19**, 317-326
- 36) 奥野晃正 (1964) Vasopressin の体温低下作用. 日本生理誌 **26**, 455-460
- 37) Sapeika, N. (1959) The effects of chlorpromazine, ipromiazide and chloroquine on adrenal ascorbic acid in the rat. Arch. int. Pharmacodyn. **122**, 196-200
- 38) Shemano, S. E. & Nickerson, M. (1958) Effect of ambient temperature on thermal responses to drugs. Canad. J. Biochem. Physiol. **36**, 1243
- 39) Toivola, P. & Gale, C. C. (1970) Effect on temperature of biogenic amines infusion into hypothalamus of baboon. Neuroendocrinol. **6**, 210-219
- 40) Vogt, M. (1954) The concentration of sympathin in different parts of nervous system under normal conditions and after the administration of drugs. J. Physiol. **123**, 451-481



急性代謝性アシドーシスにおけるイヌリンおよびクロール間隙の 変動とクロールの分布について 612.014.1

藤 本 守*, 檜 垣 鴻**

(*岐阜大学医学部第二生理学教室, **京都府立医科大学第一生理学教室)

Change of inulin- and chloride- spaces during acute metabolic acidosis in the rat Mamoru FUJIMOTO* and Koh HIGAKI** (*Department of Physiology, Gifu University, School of Medicine, **Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine)

1. The chloride content of various tissues was determined in the acidotic rat 24 hours after loading of 5 mM/kg body weight of 0.3N HCl intravenously. The alteration of extracellular space in individual organs and whole body was estimated with ^{14}C -inulin and chloride content with ^{36}Cl space and its specific activity.

2. Comparing the acidotic rat with normal control, the inulin space in the acidotic rat was slightly increased in the intestine, liver, and bone, and more markedly in the skeletal muscle. The muscular ECF volume was enlarged even expressed per unit weight or unit water volume, though both the total muscle weight and its water content were also increased.

3. Generally, the ^{36}Cl space was expanded in the abdominal organs, such as intestine, liver and kidneys. The detailed survey for specific activity (S. A.) of ^{36}Cl in various organs presented a correlation between the size of ^{36}Cl space and its S. A. that the more Cl space, the higher tissue S. A.

4. The increment fraction of body or tissue chloride after parenteral Cl loading was 32% of the amount of Cl infused for skeletal muscle, the greatest mass in the body. The buffering of bone was as much as 13%, and 12% was excreted in the urine for 24 hours during recovery period from the acidosis. The fraction of liver was 8% and 5% for intestine, whereas those of skin, kidney and circulating blood were less than that. Thus, approximately 80% of infused chloride could be followed up by analysis of tissue mass of over 77% of body weight.

5. From the above findings, it is considered that the effect of tissue buffering can be exerted roughly according to the size of tissue mass and their neutralizing capacity. The skeletal muscle and bone may be considered to be the most important in mitigating the excess of Cl during hyperchloremic acidosis. Hyperchloremic acidosis would cause an expansion of muscular ECF, as well as that of muscle cell volume, which might be due to an increase of Cl in the interstitium within the muscle tissue or tendon.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1972) 34, 16-27〕

key words : hyperchloremic acidosis, tissue buffering, inulin space, chloride space.

I. 結 言

先に著者らは正常ラットにおける ^{14}C イヌリンならびに ^{36}Cl 間隙を各種臓器について測定する方法とその結果について発表した⁴⁾⁶⁾¹⁰⁾. 前者は現在細胞外液の指標として最も適当と信じられているものであるが、後者は細胞外液のみならず、一部は細胞の内部に分布することが確

実であり、イヌリン間隙に比べて常に大きい値をとる。また、Cl間隙は一般に体液のCl代謝や酸塩基平衡の変化によっても変動すると考えられる。

一方、すでに吉村一派⁷⁾¹⁴⁾²²⁾²³⁾はイヌに塩酸を静脈内注入して急性アシドーシスをおこさせた時、注入されたHClが、1)細胞外液による緩衝、2)細胞内液による緩衝、3)腎による排泄、という三段階の調節過程が、順序をおって経時的に展開されることを明らかにした。

さて、このような高クロール性アシドーシスの際、全身的に Cl 間隙が増大することは大槻¹⁵⁾の研究から明らかであるが、それが一体何れの組織に最も顕著であるかは、今の所よくわかっていない。そこで著者らはこの点をさらに詳細に検討するために、ラットを用いて、各臓器毎に細胞外液と Cl 間隙を求め、それによって注入された Cl の行方を定量的に追跡した。

II. 実験方法

実験には体重 150~250 g の Wistar 純系雄性ラットを使用した。また、実験に先立って、すべてのラットは 1~2 週間日本クレア社製ラット用固型飼料で飼育し、生活条件を一定にした。水は給水ビンにより自由に与えた。

総計 36 匹のラットを 5~6 匹ずつ 7 つの群にわかれ、その中の第 1 群は正常ラットを用い、腎血管を結紮した後、腎以外の各種臓器（脳、肝、小腸、筋肉、骨および皮膚）と全身の *in vivo* における ^{14}C -イヌリン間隙の測定を行なった。また、第 2 群はアシドーシスのラットによって上述の組織と全身のイヌリン間隙の測定を行なった。第 3 群および第 4 群では、摘出した腎の皮質切片を用いて、*in vitro* の方法でそれぞれ正常およびアシドーシスラットの腎の ^{14}C -イヌリン間隙量を測定した。第 5 群では、正常ラットの ^{36}Cl 間隙の測定法を検討するため、 ^{36}Cl を注射した後、その平衡時間を 1.5, 2.0, 2.5 時間、さらに 24, 48, 72 時間とかえた場合の全身 ^{36}Cl 間隙の大きさを比較検討した。その結果、比較的安定な 24 時間平衡法を用いて、第 6 群のラットについて、その全身ならびに各種臓器（肝、腎、小腸、筋肉、骨および皮膚）の *in vivo* における ^{36}Cl 間隙量を測定した。最後の第 7 群では、アシドーシスのラットについて、上述の各種のクロール間隙量を測定した。以上によって、イヌリン間隙、クロール間隙量を、正常ラットのものとはアシドーシスラットの両者で対比することにした。

使用した放射性同位元素のうち、 ^{14}C -イヌリン ($(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5)_n^{14}\text{COOH}$, specific activity 3.75

mc/g) は、 $5\ \mu\text{c}/\text{ml}$ の割合に生理的食塩水に溶解し、注射その他の使用液とした。一方、 ^{36}Cl (H^{36}Cl 溶液, specific activity $0.347\ \text{mc}/\text{g}$) は $0.15\ \text{N}$ の NaOH で中和し、中性とした後、注射に用いた。これらの注射は股静脈より 5 号針を用いて行なった。

1. アシドーシスラットの作製

動物に急性代謝性アシドーシスをおこさせるために、 $0.3\ \text{N}$ HCl をラット体重 kg 当たり $5\ \text{mEq}$ ($16.7\ \text{ml}$) の割合で、且つ 1 分間 $0.5\ \text{ml}$ 以下の速度で一側の股静脈内に直接注入した。 HCl の注入が終わると直ちに、反対側の股静脈から Na^{36}Cl をラット体重 $100\ \text{g}$ 当たり $0.56\sim 0.58\ \mu\text{c}$ の割合で注射した。一方、イヌリン間隙を求めるためには、酸注入約 20 時間後に、外科的に腎血管を結紮し、その後 ^{14}C -イヌリンを $1\ \mu\text{c}/100\ \text{g}$ の割合で注射し、少なくとも 2 時間以上平衡させた後、血液や組織を分析した。

2. ^{14}C -イヌリン間隙（腎を除く各種臓器）の測定

まず、イヌリン間隙量を求めるにあたって、thiopental (ravonal) による軽度の麻酔下で、側腹部に $2\ \text{cm}$ 程度の切開口をもうけ、後腹腔より腎を露出し、その腎門部を充分固く結紮し、再び腎を後腹部に戻す。これを両腎について行なった後、 ^{14}C -イヌリンを $1\ \mu\text{c}/100\ \text{g}$ の割合で股静脈から注入する。以後、最低 2 時間以上経過してから、試料をとる。試料としては大動脈または頸動脈よりとった動脈血ならびに各種臓器の摘出標本で、これらをもとに各々のイヌリン間隙量を希釈法によって求めた。なお、全身のイヌリン間隙量は、 ^{14}C -イヌリンの注入量を平衡後の血漿濃度を除して求めた。その際、まず試料の一部を用いて乾燥法により組織水分重量比率を求め、また、一方他の一部を用いて放射能を計測した。組織片をホモジェナイズするには、まず小鉢で素早く細切し、秤量後、一定量の水を加えてホモジェナイザーにかける。ホモジェネートのうちの一定少量をプランチェット（小皿）にとり、ガスフロウカウンターで放射能を測定する。これに希釈因子を乗

じて元の組織の水分当たりの ^{14}C イヌリン濃度を算出した。血漿中の ^{14}C イヌリン濃度も水当りに換算しておく。放射能計測上、注意したのは血漿蛋白および組織による自己吸収量で、これは予め ^{14}C をふくまない血漿ならびに組織液に既知量の ^{14}C -イヌリンを添加して、自己吸収量の比率を定めておき、実測カウント数にそれを乗じて補正した。また、乾燥にあたっては、湿潤の秤量試料を 75° または 105°C の乾燥器に2日間または2時間以上おいたのち、デシケーター中で放冷し、すばやく再度秤量して乾燥重量を求め、これから組織水分含有比率 (%) を算出した。これらの方法の詳細についてはすでに本誌¹⁰⁾に報告したので、ここでは省略する。また、腎は構造と機能の特殊性に基づき、他の方法で体液区間を求める心要があるが、これについてもすでに別報⁴⁾で詳しく紹介したので、ここでは重複をさける。

3. クロール間隙の測定

組織のクロール間隙の測定には、イヌリン間隙を求めた時に使用したラットと同腹のラットを使用した。動物には軽度のエーテル麻酔をほどこし、 ^{36}Cl を $0.56\sim 0.58\ \mu\text{C}/100\ \text{g}$ の割合に注射する。この場合は、イヌリンとちがって、余り速やかに尿中に排泄されないので、血中レベルが比較的安定で、腎血管を結紮することなく、intactな状態で測定できる。反面、クロールが一部細胞または細胞内に分布するために、経時的に体液間隙量がふえてゆく欠点がある。このような条件を明確にさせるために、第5群の6匹のラットに ^{36}Cl を注射し、その後1.5, 2.0, 2.5時間、ならびに24, 48, 72時の ^{36}Cl 間隙を求めた。 ^{36}Cl 注入後はラットを1匹宛、代謝ケージに入れ、その後の尿をすべて採集した。飼育終了時にはケージを蒸留水で洗い、その洗滌液の放射能をふくめて、 ^{36}Cl の体外損失量を求め、それと注入量の差をもって体内残存量とした。

このような方法にならって、第6, 第7群では、24時間の平衡時間を採用することとし、 ^{36}Cl 投与の翌日同時間の血漿および各種組織の

^{36}Cl の放射能を分析した。放射能の測定は ^{14}C -イヌリンの場合に準じて行なった。なお、 ^{36}Cl の血漿ならびに組織中濃度から ^{36}Cl 間隙を求め、これに Donnan 比その他を補正するために水補正係数 1.07 (既報¹⁰⁾) を乗じた。さらに血漿中の蛋白あるいは組織片による放射能の自己吸収をも補正した。

4. ^{36}Cl の specific activity (比放射能 S. A.) の計算

本報では特に HCl 注入による高クロール性アシドーシスのラットで Cl 処理が如何に行なわれるかを探るために、各種臓器の S. A. を求めることとした。その計算は次の如くである。

$$\text{血漿の S. A. } (\mu\text{C}/\text{Eq}) = \frac{[^{36}\text{Cl}]_P}{[\text{Cl}]_P}$$

$$\text{各種臓器の S. A. } (\mu\text{C}/\text{Eq}) = \frac{[^{36}\text{Cl}]_{\text{TH}}}{[\text{Cl}]_{\text{TH}}}$$

ただし、 $^{36}\text{Cl}]_P$ および $^{36}\text{Cl}]_{\text{TH}}$ は、それぞれ血漿および組織ホモジェネートの単位容積あたりの ^{36}Cl の μC 数、また $[\text{Cl}]_P$ および $[\text{Cl}]_{\text{TH}}$ はそれぞれ血漿および組織ホルモジェネート単位容積あたりの総 Cl を Eq 数で表わすものとする。なお、正常群とアシドーシス群を比較するために、次のように各種臓器の S. A. を血漿のそれに対する比率 (%) で表示して比べることとした。

臓器の S. A. の血漿比率 (%)

$$= \frac{\text{臓器の S. A.}}{\text{血漿の S. A.}} \times 100$$

また、血漿、各種組織のクロールの測定においては、血漿はなんら前処理することなく、その一定量を用いて、また各種の組織は切片の浸漬法 (Leaching method), すなわち秤量ずみの組織細切片を in vitro で既知量の水に浸漬させ平衡後に水にとけだしたイオン量をはかる方法で、48~72時間に溶出してきた組織抽出液のクロールについて、Cotlove の銀イオンの電気滴定法¹⁾により測定し、希釈率を乗じて、元の組織中の濃度とした。

5. 各種臓器 (組織) の重量と Cl の分布 各種臓器を摘出する前に、全身表面にチオグ

リコール酸カルシウム軟膏（エバクレームとして市販）を塗布して、全身の被毛をとかし、純水で洗って清拭する。ついで頸動脈を切開して放血致死せしめ、まず最初に皮膚を剝離した後、主要臓器、肝、心、腎、胃腸などを手早く順次摘出して、それらに附着した脂肪や結合組織を除く。次いで臓器を秤量する。最後に筋肉と骨をほぼ完全に分離して、それぞれの重量を測定した。測定値は体重あたりの比としてあらわし比較した。以上の測定値を基礎として、各種臓器別の ^{36}Cl および Cl の分布量の変化を調べた。臓器組織中の総 Cl 量は次の式によって算出した。

$$\begin{aligned} \text{組織中総 Cl} &= \text{組織重量} \times \text{組織 Cl 濃度} \\ &= \text{組織重量} \times \text{血漿 Cl 濃度} \\ &\quad \times {}^{36}\text{Cl 間隙/組織 S. A. の血漿比率} \end{aligned}$$

その他、正常およびアシドーシスの両群のラットの血漿および血球内の Cl の測定をおこなったが、その方法には別に報じた⁶⁾ので、繰返すことをさける。ただし、血球内のクロールを求める基礎となる trapped plasma 量としては ^{14}C -イヌリンを細胞外液の指標とした値として、全血容積に対して、 1.79 ± 0.09 (S. D.) % の値を採用し、 ^{36}Cl の平衡時間を24時間とした。

III. 実験成績

1. 正常ラットならびにアシドーシ斯拉ットの各種臓器重量

各種臓器の体重あたりしめる割合を、正常およびアシドーシ斯拉ットについて測定した成績を Table 1 に示す。

体重 kg 当たり、5 mM の HCl を投与されたラットにおいても、個々の臓器重量は正常対照群と比べてほとんど変化がない。表にあげられたもので、体重の77~81%をカバーしており、これに主血管内の血液（6~8%）を加味すれば、ほとんど90%が本研究の分析対象になっていることを意味する。残りは腹水、関節、血管系（心臓をふくむ）、リンパ系、軟骨、肺、毛髪、食道、大腸との内容などであろう。

絶対量としては筋（骨格筋）、皮膚、骨、脳、

Table 1. Tissue weight in the rat

Tissue	Normal rat	Acidotic rat
	(% of B.W.)	(% of B.W.)
Bone	13.5 ± 1.0	15.8 ± 3.8
Brain	8.6 ± 1.6	10.0 ± 2.3
Intestine	3.0 ± 0.3	3.0 ± 0.4
Kidney	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
Liver	3.1 ± 0.4	3.4 ± 0.3
Muscle	31.2 ± 4.0	32.2 ± 2.0
Skin	16.0 ± 2.3	15.8 ± 0.9

The figures are mean ± S.D.

Table 2. Comparison of ^{14}C -inulin spaces of various tissues in the normal and acid loaded rat

Tissue	Normal rat			Acidotic rat		
	H ₂ O % of T. 100 g	^{14}C -inulin space % of T.W.	% of T.H ₂ O	H ₂ O % of T. 100 g	^{14}C -inulin space % of T.W.	% of T.H ₂ O
Brain	72.0 ± 0.4	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	74.3 ± 2.6	0.7 ± 0.3	0.9 ± 0.4
Bone	38.1 ± 1.0	10.1 ± 0.8	26.6 ± 1.5	35.1 ± 1.8	10.9 ± 1.0	33.1 ± 2.6
Intestine	75.0 ± 1.0	21.1 ± 0.6	28.0 ± 0.9	74.7 ± 0.8	24.1 ± 0.7	31.5 ± 1.0
Kidney*	77.7 ± 0.9	19.6 ± 2.1	25.2 ± 2.7	78.1 ± 1.1	20.7 ± 2.3	26.5 ± 3.2
Liver	70.2 ± 0.6	13.4 ± 0.5	19.2 ± 1.0	71.3 ± 1.0	14.1 ± 1.0	19.7 ± 1.3
Muscle	70.6 ± 2.5	11.8 ± 0.3	16.7 ± 0.9	74.3 ± 1.3	13.0 ± 1.0	17.5 ± 0.6
Skin	60.2 ± 1.2	46.9 ± 2.0	77.9 ± 3.7	63.8 ± 1.4	46.2 ± 0.6	73.6 ± 0.8
Whole body	^{14}C -inulin space		^{14}C -inulin space			
	% of B.W.	% of B.H ₂ O	% of B.W.	% of B.H ₂ O		
		22.8 ± 1.0	35.2 ± 1.5	21.5 ± 0.5	33.1 ± 0.8	

The data were summarized from 20 rats consisting of separate 4 groups. The numbers denote mean ± S.D. * Indicates the value of cortical slices.

肝、小腸、腎の順に大きい。特に筋は体重の1/3、皮膚と骨で1/3、その他に一般内臓と考えてよいであろう。

2. 正常およびアシドーシ斯拉ットの ^{14}C -イヌリン間隙の比較

^{14}C -イヌリンを体重 100 g 当たり $1 \mu\text{C}$ の割合に腎血管結紮ラットに静注し、2時間以上平衡させてから、その分布容積を求めた成績を Table 2 にまとめて示す。

表の左半は正常ラットの各種臓器と全身の ^{14}C -イヌリン間隙を、また右半はアシドーシ斯拉ットのそれを示す。臓器によって水分含有率(%)が異なり、したがってイヌリン間隙を臓器重量あたりに表わすか、または臓器組織水あたりに表わすかで数字が異なる。一番下に全身のイヌリン間隙量が示されているが、体重当たり正常ラットとアシドーシ斯拉ットで、それぞれ

22.8±1.0 (S. D.) %と 21.5±0.5%であり、これを水あたりにみると 35.2±1.5%と 33.1±0.8%でほぼ水区間の 1/3 が細胞外にあることになる。

臓器別の水分含有率のうち、骨は 38.1% (正常) または 35.1% (アシドーシス) のように、他の臓器群に比べて少ない値を示している。これは骨髄成分の多寡に関係があり、したがって管状骨や扁平骨などのように調査資料によって異なる。ここでは大腿骨と下腿骨のもので骨のもので骨髄よりの血液を濾紙で軽く吸わせた後測定されたものである。

イヌリン間隙量のうち、特徴的なのは脳と皮膚のそれである。血液中に注入された ^{14}C -イヌリンは血液脳関門を容易に通過せず、したがって、脳実質の方へは分布しない。ゆえに水あたりにみても 1%以下という微量である。皮膚の場合は、これとは対照的に、組織重量あたり

46~47%、水あたり 73~78% が細胞外に存在する。完全角化した組織部分はホモジェナイズするに一定の困難があり、細胞自体、他の組織のように完全形態をとらないとか、間質組織が非常に多量であることに基づくものである。

他の実質組織のイヌリン間隙はすべて、重量あたり 10~25% (水あたり 16~33%) の範囲内にある。

動物に酸を負荷することにより、骨、腸、肝、筋などで、正常対照ラットに比べて、ごく僅かながらイヌリン間隙が増している傾向があるが(筋で 5%、腸管で 1%の有意差がみられる)、全身的にみると、逆にアシドーシスラットの方が減少している。これは HCl 注入で利尿がおこり、全身的に軽度の脱水があるに対し、各組織レベルでは若干浮腫の傾向があり、組織障害によるのかも知れない。

Table 3. Urinary excretion of ^{36}Cl in the normal and acid loaded rat (24 hrs)

Normal rat					Acid loaded rat				
No.	Body Weight g	^{36}Cl Admin. μCi	^{36}Cl Excret. μCi	% Excret. of ^{36}Cl	No.	Body Weight g	^{36}Cl Admin. μCi	^{36}Cl Excret. μCi	% Excret. of ^{36}Cl
1	205	1.170	0.036	3.1	1	245	1.430	0.028	19.6
2	154	0.890	0.062	7.6	2	180	1.040	0.215	20.7
3	247	1.430	0.066	4.6	3	175	1.020	0.138	13.5
4	217	1.230	0.103	8.4	4	219	1.220	0.103	8.4
5	218	1.260	0.067	5.3	5	225	1.280	0.348	27.2
Mean	208	1.174	0.067	5.7	Mean	209	1.198	0.217	17.9
\pm S.D.	30	0.175	0.021	1.9	\pm S.D.	27	0.153	0.090	6.4

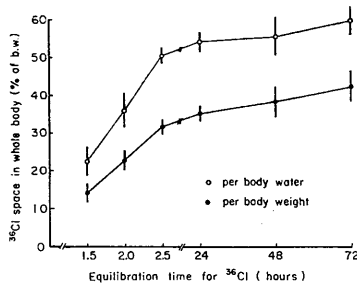


Fig. 1. Change of ^{36}Cl space as a function of equilibration time.

表 2 における腎のイヌリン間隙値は、先に報告した腎皮質の切片による *in vitro* の方法による。全身的に投与したのでは、腎イヌリン間隙をはかることはできない。

3. ^{36}Cl の代謝と ^{36}Cl 間隙の測定

Na^{36}Cl の形で、体重 100 g に対し 0.56~0.58 μCi の割合で全身的に投与 (静脈内注射) した時、以後 24 時間に投与量の何%が尿中に排泄されるかを、各 5 匹ずつの正常およびアシドーシスラットで調べた成績を Table 3 に示す。

正常ラットにおいては、注入 ^{36}Cl のうちの 5.7% が 24 時間に尿中に排泄されているが、HCl 負荷 (5 mM/kg) 群では 17.9% という具合にその排泄が増している。これは HCl 注入によって体液量がふえ、利尿がおこったことと、腎尿管による Cl の再吸収が酸負荷群で低下したためであろう。

負荷された Cl または ^{36}Cl の一部が細胞内に侵入したり、あるいは細胞内 (組織内) に固定された Cl と交替すること

については今や議論の余地のないことであり、したがって Cl 間隙の測定も、その条件によつてちがった結果がえられることが想像される。これを確かめるために、³⁶Cl 注入後の平衡時間をかえた時に ³⁶Cl 間隙量が如何に変わるかを正常ラットの全身で観察したのが Fig. 1 である。

図示のように、時間の経過にしたがって、えられる結果が大きくなっていく。最初の 2~3 時間では急に変動しやすいが、24 時間もたつとその変化はゆるやかになっていく。図のうちで、黒丸で示したのは体重あたりの (平均値) %、白丸で示したのは体液の水分あたりの (平均値) % である (縦に貫ぬく棒は S. D. の大きさを示す)。平衡時間が長すぎることは、指示物質 (³⁶Cl) の代謝の追跡に問題が生じやすく、測定条件に一定を欠きらいがあり、実用的でない。逆に平衡時間が短かすぎると、臓器によっては平衡不十分となるおそれがある。実用的には、指示物質の注入を簡単にすませ、動物をケージに 24 時間程度放置する方法が比較的安定な値をえる条件と思われる。したがって、本研究では ³⁶Cl については組織の平衡時間を 24 時間とした。ただし血液などでは、平衡は 2 時間もたてば充分であるから、それを採用した。

Table 4 は、前述の ¹⁴C-イヌリン間隙の場合と同様に、³⁶Cl 間隙量の大きさを、正常およびアシドーシスのラットで比較したものである。各種臓器での ³⁶Cl 間隙量はイヌリン間隙量 (Table 2 参照) よりも常に大きいことは Cl⁻イオンが一部組織細胞内に侵入する事実に基づいている。これについては著者らはすでに別報で指摘した所である。一般に、Cl 間隙は、腸、腎、肝のような腺性実質臓器で高く、また皮膚のようにイヌリン間隙の多い所でも大きい。

アシドーシスにすることによって、各臓器の ³⁶Cl 間隙量が増加するものがあり、特に腸、肝、腎および皮膚で著明である。これを反映して、全身的にみても、体重当たり 35.3% (体液水分当たり 54.2%) の対照値から、アシドーシス時に体重当たり 40.2% (水分当たり 61.9%)

Table 4. Comparison of ³⁶Cl spaces of various tissues in the normal and acid loaded rat

Tissue	Normal rat			Acidotic rat		
	H ₂ O % of T, 100 g	³⁶ Cl space % of T.W.	% of T.H ₂ O	H ₂ O % of T, 100 g	³⁶ Cl space % of T.W.	% of T.H ₂ O
Brain	—	—	—	—	—	—
Bone	21.0 ± 1.1	14.9 ± 0.5	71.0 ± 2.4	21.0 ± 0.8	15.5 ± 0.5	73.8 ± 2.4
Intestine	71.0 ± 1.5	54.0 ± 2.0	75.5 ± 2.5	78.8 ± 1.0	62.5 ± 3.1	79.3 ± 2.0
Kidney	77.7 ± 0.9	54.8 ± 5.5	70.7 ± 5.4	76.9 ± 1.1	59.0 ± 3.1	71.0 ± 2.3
Liver	74.4 ± 2.6	29.4 ± 2.1	39.5 ± 3.0	70.2 ± 0.5	37.9 ± 3.4	54.7 ± 5.1
Muscle	72.3 ± 3.3	18.2 ± 1.1	24.3 ± 2.0	74.0 ± 0.7	18.1 ± 1.9	24.5 ± 2.5
Skin	60.6 ± 3.8	58.8 ± 3.7	97.2 ± 0.5	59.3 ± 1.5	58.6 ± 2.0	100 ± 1.7
Whole body	³⁶ Cl space			³⁶ Cl space		
	% of B.W.	% of B.H ₂ O		% of B.W.	% of B.H ₂ O	
	35.3 ± 0.9	54.2 ± 1.4		40.2 ± 1.1	61.9 ± 1.7	

The data were obtained from 10 rats in 2 groups. The numbers in the table are mean ± S. D.

へと数%も増している。これに対して、筋肉や皮膚では、アシドーシスの有無によってほとんど変化を認めなかった。前述のように、³⁶Cl の組織における平衡時間によって、えられる体液間隙量は変わるのみならず、Table 4 にみられるように組織の種類によって、またアシドーシスの存否によってちがってくる。したがって種類の異った組織と物理化学的条件のちがった区分の集合体である全身の Cl 間隙もそれらの種々の影響をうけることになるのであろう。

4. 各種組織の ³⁶Cl の比放射能 (specific activity, S. A.)

正常ラットとアシドーシスラットの各種組織のイヌリンと Cl の間隙量の比較と ³⁶Cl に関する比放射能 (S. A.) をまとめて、Table 5 に示す。S. A. は組織ホモジェネートの値を血漿の値の%比として表わしてある。これは正常ラットとアシドーシスラットでは ³⁶Cl 注入量は同じであっても、24 時間内の排泄速度が異なるため、³⁶Cl の体内残存量がちがう、S. A. が組織はもとより血漿までも変わってくるからである。血漿値の%として組織の値を表わすことにより、S. A. の組織別、正常、アシドーシスの群別の比較が可能となる。

イヌリンと ³⁶Cl 間隙の比をみると、細胞内に ³⁶Cl が入る組織程、その値が小さくなる。腎、腸、肝のように transcellular fluid に富み、

Table 5. The ratio of inulin space to ³⁶Cl space and specific activity for ³⁶Cl in various tissues in the normal and acid loaded rat

Group	Normal rat				Acid loaded rat			
	Inulin space % of TV	³⁶ Cl space % of TV	Inulin- ³⁶ Cl-space	% of SA for ³⁶ Cl per plasma SA M ± S.D.	Inulin space % of TV	³⁶ Cl space % of TV	Inulin- ³⁶ Cl-space	% of SA for ³⁶ Cl per plasma SA M ± S.D.
Bone	10.1	14.9	.678	53.3 ± 1.3	10.9	15.5	.703	54.0 ± 1.3
Intestine	21.1	54.0	.391	57.1 ± 3.0	24.1**	62.5**	.386	62.1 ± 2.9**
Kidney	19.6	54.8	.358	63.4 ± 3.3	20.7	59.0*	.351	63.8 ± 0.9
Liver	13.4	29.4	.451	38.0 ± 2.2	14.1	37.9**	.372	41.5 ± 1.6*
Muscle	11.8	18.2	.648	40.4 ± 2.2	13.0*	18.1	.718	38.2 ± 2.5
Skin	46.9	58.8	.798	96.3 ± 1.7	46.2	58.6	.788	95.2 ± 2.6
Whole body	22.8	35.3	.646		21.5	40.2	.535	

* P < .05, ** P < .01

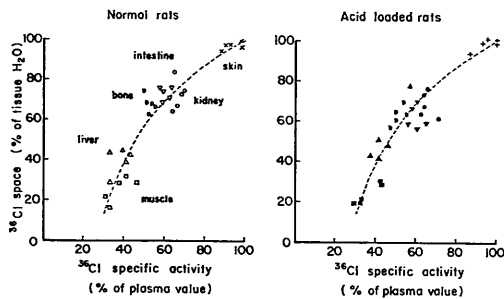


Fig. 2. Relationship between ³⁶Cl space and specific activity (Each dot represents mean of 5 measurements in 1 rat).

Table 6. Total chloride balance in the normal and acid loaded rat (24 hrs)

Group	Normal rat				Acidotic rat				Difference of total Cl mEq/kg BW
	Tissue Weight g/kg BW	³⁶ Cl space ml/kg TV	(SA) _t / (SA) _p	Total Cl mEq/kg BW	Tissue Weight g/kg BW	³⁶ Cl space ml/kg TV	(SA) _t / (SA) _p	Total Cl mEq/kg BW	
Bone	135	149	.533	3.95	150	155	.540	4.60	0.65
Intestine	30	540	.571	2.97	30	625	.621	3.23	0.26
Kidney	8	548	.634	0.72	9	638	.638	0.89	0.17
Liver	36	294	.380	2.92	34	379	.415	3.32	0.40
Muscle	312	182	.404	14.72	322	181	.382	16.31	1.59
Skin	160	588	.963	10.23	158	586	.952	10.40	0.17
Total	681			35.51	707			38.75	3.24
Erythrocyte	35	[Cl] mEq/l 50.3		1.76	36	[Cl] mEq/l 55.6		1.95	0.19
Plasma	40	104.7		4.19	39	106.9		4.17	-0.02
Total	75			5.95	75			6.12	0.17

腺性の組織の豊富なものでは、その比が低く、0.35~0.46程度である。これはイヌリン間隙の2.2~2.9倍程度も³⁶Cl間隙があり、しかも正常に比べてアシドーシスでは、このような実質腺性臓器で³⁶Cl間隙の増し方が多いことが伺われる。これに対して骨、皮膚や筋などの身体支持構築組織では、イヌリンと³⁶Clの間隙の比が0.67~0.80程度で、結局³⁶Cl間隙の方がイヌリン間隙の1.2~1.5倍程度であることを示している。

S. A. はその大きさからみて、血漿>皮膚>腎>腸>骨>肝、筋の順である。正常群とアシドーシス群の両者を比べると、筋と皮膚をのぞき後の方がやや高い傾向にある。しかし統計的には腸管 (p<.01) と肝 (p<.05) 以外は有意差ではない。この S. A. の大きい臓器程、³⁶Cl 間隙が大であるが、これは実験条件によって与えられた平衡時間内に注入した³⁶Cl が組織細胞内に浸透する容易さを表わすものであろう。

この S. A. の大きさと ³⁶Cl 間隙 (体液水分に対する%) の相関々係をみたのが Fig. 2 である。これは ³⁶Cl 注入後24時間たってから調べられたもので、図の左半は正常ラット群の成績を表わし、右半はアシドーシスのラット群のそれである。それぞれ一つの印は1匹のラットで測定された5試料の平均である。S. A. の大きな臓器とは ³⁶Cl の交替率の高い臓器であり、そのような臓器では ³⁶Cl 間隙が高くなり、逆に ³⁶Cl の S. A. が小さい臓器程 ³⁶Cl 間隙の大きさが小さい。正常群とアシドーシス群の両者を比べても ³⁶Cl 間隙と S. A. の相関々係は全く変わらない。このような関係からみると、アシドーシスによって ³⁶Cl 間隙が若干ふえるという現象は、むしろ臓器別にみて S. A. すなわち ³⁶Cl の交替率の増加するものがふえるということになる。

5. 全身および各種臓器の Cl 総量とそのバランス

以上の結果をもとにして、正常およびアシドーシスのラットの全身の Cl の出納量を算出することができる。

Table 6 は臓器別に HCl (5 mM/kg) 投与前後の総 Cl 含有量を計算し、まとめたものである。調べた臓器の重量は体重 kg 当たりの g 数で表示されており、主な組織で合計すると体重の70%前後が網羅されている。これに大動脈や大静脈、心臓、肺などに残存する血液 (7.5%) を加えると、ほとんど80%に近い分析値となる。組織重量に ^{36}Cl 間隙量を乗じ、S. A. で割ると組織別の総 Cl 量が求まるから、これを合算すると、注入 HCl の約何%が何れの臓器に分布するかを数量的に表示できるわけである。

総 Cl 量としては筋、皮膚、血液、骨、腸、肝、腎の順になってくる。正常ラットの全身の約70%の重量をしめる組織によって、その Cl 量は重量当たり 35.51 mEq/kg であるが、HCl を 5 mEq/kg 投与したことにより、翌日 38.75 mEq/kg になった。その増加量は 3.24 mEq/kg で、結局 HCl の約65%が上記組織に分配されたことになる。尿中に24時間内に排泄された Cl 変化分は、Table 3 より投与 HCl の 12.2% であり、これを上記の臓器分布量に加えなければならない。

なお、血液資料は、便宜上血球 Cl と血漿 Cl の二つにわけて計算してみたが、その比は 3 : 7 のように血漿に多い。しかし、HCl 投与によるアシドーシス (24時間後) の血漿には殆んど変化は認められず、もし存在するとすれば、血球の方に若干ふえている結果がみられる。

以上の結果をまとめて、注入された HCl の如何程が24時間後に何れの組織に分布しているかを総合して、Table 7 に示した。組織分析量は正常、アシドーシス両群の臓器平均値から割出し、全体で 77.2%、Cl の総量のバランスが投与量 5 mEq/kg のうちの 80.4% となって、一応合理的な数字がえられている。この結果によれば、骨格筋で 31.8%、骨で 13.0%、尿中に

Table 7. Change of tissue chloride content after acid load in the rat

Distribution	% of B.W.	% of Cl Infused
Urinary excretion	0.5	12.2
Blood in trunk vessels	7.5	3.4
Bone	14.3	13.0
Intestine	3.0	5.2
Kidney	0.8	3.4
Liver	3.5	8.0
Muscle	31.7	31.8
Skin	15.9	3.4
Total of tissues examined	77.2	80.4

12.2%、肝で 8.0%、腸で 5.2%、腎、皮膚、血液の何れも 3.4% が分布していることがわかる。

IV. 考 察

1958年奥村¹⁴⁾はイヌの静脈内に 0.15N HCl を負荷して急性代謝性アシドーシスをおこさせた場合、注入された酸が最初細胞外液で中和され、呼吸促進作用を誘発する一方、細胞外のアシドーシスの影響が次第に細胞内液相におよび最終的に腎から主にアンモニウム塩として排泄されるまでの時間的分析を行なった。当時その細胞外液相のイオン量の計算の基礎になった細胞外液容積はロダゲン間隙であり、定量的な変化量の追究には不確実な面があった。その後、吉村と著者ら²²⁾ (1962) はイヌリン間隙を実測して、同様の条件で追試をおこない、より正確なアシドーシスの調節機序を明らかにした (アシドーシスの三段階調節説 three-step-regulation theory)。この分析によれば、注入による過剰の HCl は24時間以内に細胞外液からその大部分が姿をけし、それが組織 (おそらく細胞内) の何れかに侵入し、腎による排泄が完了する数日間、身体のどこかの組織内に固定または蓄積されねばならない理屈になる。大槻 (1963)¹⁵⁾はこのようなアシドーシスのイヌでは ^{36}Cl によるクロール間隙が増大していることを指摘し、それをもとにして細胞外に注入した

Cl の大部分が、24時間後には細胞内に入るという見解を支持した。しかし大槻の研究では、アシドーシスをおこすために注入された Cl と、クロール間隙をはかるための指標の ^{36}Cl の両者の注入後の平衡時間が異なっているため、また ^{36}Cl の比放射能 (S. A.) が正常イヌとアシドーシスイヌの何れも決定されていないから、Cl の総量の計算結果と解釈に一抔の不安が残されている。ともあれ、このような Cl の細胞内への侵入が事実おこるのかどうか、またおこるとすれば、どの程度におこるかは大きい問題である。そこで著者らはこれらをはっきりさせるためラットを用いて、イヌとほぼ同程度のアシドーシスをおこさせて、全身のみならず、体内の各種臓器レベルの Cl 分布の変化を追究することにした。

さて、ラットについては前報¹⁰⁾においてその全身ならびに各種臓器のイヌリンおよび Cl 間隙を測定する方法について述べたので、本報ではそれを HCl 注入によるアシドーシスのラットにも適用し、それをもとにして体内の Cl の変動を分析調査した。イヌリン間隙測定には ^{14}C -カルボキシルイヌリンを、またクロール間隙には ^{36}Cl を指示物質とし、前者には正常またはアシドーシスのラットに対し腎結紮を行なった後2時間以上平衡せしめ、また後者は腎を結紮しないで24時間平衡させた後に測定した。

正常ラットとアシドーシ斯拉ットの両群を比較すると、イヌリン間隙はそれ程著明な差がないが腸管と骨格筋で有意の増加をみとめ、その他肝、骨でも若干の増加傾向を示すものがあった。その場合、骨、筋ではアシドーシスによりわずかに組織重量の増加を伴っていたが、これらではそのイヌリン間隙量は重量当たりを表わしても、なお増加していた。さらに筋肉はアシドーシスの場合にその水分含有率が上昇していた。これらの事実により、特に筋と腸管それから若干は骨、肝などでアシドーシスに際して細胞外液の増加傾向がおこることが伺われた。これは古く Hastings ら (1937)⁹⁾ の観察とも一致している。それらとは別に、細胞外に加

えられた Cl が一部細胞内に入ることは Cotlove & Hogben (1962) により指摘されており、これはすでに定説化され、定量的にイヌリン間隙とクロール間隙を測定して比較することにより、後者が前者よりはるかに大きいことから想像がつく。HCl 注入後に細胞内へ Cl^- 侵入がおこる場合、その多くが細胞内既存の HCO_3^- と交換されたり、 H^+ と一対になって HCl そのものとして細胞内に入り、細胞内 pH を下げようとする。生体はそれをふせぐべく pCO_2 を下げて pH の恒常性を保とうとする²²⁾。実験条件では Cl のような非揮発性陰イオンの変動を組織全体および細胞内で明確にすることが、この現象をとらえる決め手になると考えられる。クロール間隙²⁾ は本実験条件のようなアシドーシスの場合、小腸、肝、腎などの内臓諸臓器にその増加傾向が有意にみとめられた。 ^{36}Cl 間隙そのものの大きさは組織における ^{36}Cl の比放射能、つまり ^{36}Cl と組織 Cl の交替率の大きさと一定の相関々係を示し、与えられた時間内での ^{36}Cl 間隙の高まりは同時に ^{36}Cl と組織 Cl の交替率の増加を意味していることが明らかとなった。

また塩酸注入後24時間の時点では、与えられた Cl の約 1/8 はアシドーシスによって尿中に正味排出され、残りの 7/8 が体内に存続することになるが、体重の70%を占める諸臓器の Cl 変化量を精査すると、与えられた Cl の 1/3 が骨格筋、次いで骨が 1/8、その他、肝、腸などの消化器に比較的多量に分布していることがわかる。

このような Cl の定量的な臓器分布量の計算の結果をみると、重量の重い筋が最も大きい Cl 貯蔵庫になっており、骨がそれについて多く、むしろ腺性実質臓器は少ない。さらに筋や骨などの主な体構成にあずかる組織では、その水分含有率がアシドーシスによってふえており、イヌリン間隙量もやや増している。その水分ならびに組織重量自身の増加があるためにそれら組織の単位量あたりの ^{36}Cl 間隙はアシドーシスによって影響をうけないことが考えられる。しかも筋肉の S. A. は値としては小さく、

アシドーシスによって、むしろ減少している。つまり、注入によって与えた易交換性の Cl^- が細胞内に存在した Cl^- との交替がましたとはいえず、むしろ酸注入によってこれらの組織が膨化したということが考えられる。もしそうとすれば、 HCl を注入するという苛酷な実験条件と筋組織の障害による浮腫ないし機能不全などの因果関係が考慮されねばならないであろう。

アシドーシスをおこすために負荷された HCl 量は体重 kg 当たり 5 mM で、これは一般の致死量の約半量で、注入終了後には通常血液 pH が 7.2 前後の中等度のアシドーシスになる。副作用としては注入につかった血管や注入液に直接ふれた血液が障害され、変性や溶血をおこすことである。しかし溶血効果はやがて消失すると共に、全身の臓器の器質的障害も $\text{pH} 7.0$ 以下でない限り、可逆的であり容易に回復する程度のものである。同程度のアシドーシス誘起法に NH_4Cl ¹¹⁾ 径口投与法があるが、肝細胞に対する負荷ははげしく、酸の量は当量の HCl 注射と同じである。しかもこの場合は注入後の経時的観察は直接注入法に比べて曖昧であるから、一得一失といえよう。

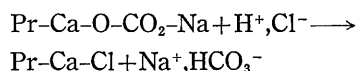
本実験において注入に使用された HCl は 0.3 M であり、液そのものは等滲透圧的といえないが、注入後 H^+ は直ちに緩衝されて、消滅するという効果をみこしてつかわれており、 0.15 M 液に比べて液量を半減さすことができる¹⁸⁾。これでも注入液量は、平均 200 g のラットで水分にして 3.3 ml で、体重の 1.7% 、細胞外液量の 7.3% 、全血量の約 20% に相当する。ゆえに注入は緩徐に行なわれねばならない。水分量としては生理的に充分耐えうる量であり、この程度なら体液成分としても比較的早期に是正されるものである。

以上の観点から、筋肉だけが特に器質的な障害をうけるとは考えられない。むしろ、アシドーシスによる筋の興奮性減退と組織細胞外液や水分増加の関連しているかも知れない。

DMO ⁵⁾⁸⁾¹³⁾ (5, 5-dimethyl-2, 4-oxazolindione) を用いて行なった筋肉細胞内 pH 測定

結果によると、正常ラット群で 7.10 ± 0.06 (S. D.) で、アシドーシ斯拉ット群 (5 mM/kg HCl 注入後24時間の時点) で 7.07 ± 0.07 で僅かしか変わらない。しかし酸注入によって血液アシドーシスがある時は筋の興奮性が低下していることは事実である。筋弛緩と細胞内外液の交流が低下 (たとえば、 ^{36}Cl の S. A. 低下) が関連した現象と考えても不思議ではない。

骨の場合、細胞外アシドーシスによって、その燐灰石の結晶とタンパク質 (Pr) 母地に影響がおよび、



のように、 $\text{H}^+\text{-Na}^+$ の交換、 $\text{Cl}^-\text{-HCO}_3^-$ の交換と同一の結果をおこすことが考えられる¹⁶⁾¹⁸⁾。この効果は細胞外液やクロール間隙の増加と同じ方向に作用している。

アシドーシスのラット群でイヌリンとクロール間隙の比が減少することから、腎、腸、肝のような腺性臓器でイヌリン間隙に比べてクロール間隙のふえ方がはげしいことがわかるが、これは Cl の負荷によって transcellular Cl transfer の速度が増していることに関連したのかも知れない。

HCl の投与によって、尿中 Cl 排泄の増加がおこっているが、これは血漿中の Cl 濃度が高まり、糸球体から濾過される Cl の量が増加することが第1の原因であろう²¹⁾。第2に尿細管による Cl^- の再吸収低下が、 HCO_3^- の再吸収上昇と共におこってくることである。この尿細管機序についてはよくわかっていないが、 HCO_3^- 再吸収亢進と同時に H^+ の分泌、 NH_4^+ の排泄が増したり、時には再吸収 Na^+ と交換に K^+ 排泄が増したりするが、これらの一箇の陽イオンと平衡して、比較的多く Cl^- が排泄されることが考えられる。その他、ネフロン遠位部の尿細管の両面間の電位差が少なくなるとか、あるいは細胞内 Cl の濃度の上昇がおれば、それぞれ Cl^- に対する電氣的、あるいは化学的な受動輸送の駆動力が減り、尿中の Cl 排泄量をまさせることもありうる。

以上、急性高クロール性アシドーシスの回復過程における細胞外液量と Cl の変動について論じた。一般に細胞外におこった酸塩基平衡の変化が細胞内に影響を与えるであろうことは古くより知られていたことであるが³⁾⁷⁾¹⁶⁾²⁰⁾、今日でもなお、その調節の時間的展開を、全身ならびに臓器別に定量的に観察した例はない。本論文ではアシドーシスの三つの調節相のうち、第2段階で組織緩衝能が最も強く発揮される時点を与え、組織 Cl の分布状態の概要を明らかにした。要するに、臓器によって Cl の分布量が異なり、それぞれの生理機能と密接に関連しながら変動していることが本研究で示唆されている。分析の基盤になった ³⁶Cl 間隙の測定は24時間平衡法によるもので、他の一価イオン (²⁴Na, ⁴²K, ⁸²Br) でもこの24時間法が応用されている。この時点では血漿の S. A. が安定してくるからである。それにも拘らず、個々の臓器によって S. A. が著しく異なり、組織 Cl²⁾ の多くのものが非交換性、または難交換性のものであることを示している。組織総 Cl 量としては、量的に骨格筋が最多で、次いで骨、尿中、肝、腸などという順に分布増加をみたが、そのうちでも筋組織では、その ³⁶Cl 間隙の増加を、すべて易交換性の Cl の細胞内移動と考えるよりは、水分そのものも細胞外液量の増加を反映していると考えられる。筋組織には一部腱や組織内結合組織すなわち、筋膜鞘、腱と同一組成をもつ筋肉中隔組織などがふくまれている。したがってさらに深い知見は個々の組織の分析にまたねばならない。

さらに、全身的な Cl のバランスに関しても、特に低カリウム血性アルカローシス発症に Cl が密接な関連を示すことが報じられており¹²⁾¹⁷⁾¹⁹⁾、おそらく、この種体液酸塩基平衡の調節機構の解明には Cl の分析は欠かすことができないであろう。今後この領域でも一層精査されるべきである。

V. 総 括

1. ラット静脈内に 0.3 N HCl を体重 kg 当

たり 5 mM の割合で負荷し、急性高 Cl 性アシドーシスをおこさせ、24時間後に Cl が如何に処理されているかを分析した。細胞外液量の変動は ¹⁴C-イヌリン間隙により、また Cl の代謝変動は ³⁶Cl 間隙と比放射能の変化を基礎にし、全身および各種臓器別に Cl 総量をしらべ、対照ラットと比較検討した。

2. イヌリン間隙は正常ラット群に比べ、アシドーシスのラット群では、腸管および骨格筋で軽度の増加をみとめた。特に筋では水分含有量も重量も若干増加を認めたが、それらを補正してもなお筋では増加がみられた。

3. ³⁶Cl 間隙は腸や肝、腎などの腹部内臓に上昇するものが多かったが、それらを分析すると、³⁶Cl の交替率の比較的高い組織程 ³⁶Cl 間隙が大きいくわかった。

4. アシドーシスによる組織総 Cl 量の変化を計算してみると、重量の最も大きい骨格筋が注入 Cl 量の32%、骨で13%、尿中排泄が12%次いで、肝8%、腸5%であり、また皮膚、腎、血液は何れも3%前後にすぎなかった。このように、体重の77%程度の組織の分析の結果、注入 Cl の約80%を追跡しえた。

5. 以上より、高 Cl アシドーシスの回復過程においては、筋や骨が特に重要な役割をはたし、筋組織で細胞のみならず、特に間質の Cl の増加が著明で、その他の組織をふくめ、各臓器で異なった緩衝効果がおこることが明らかである。

文 献

- 1) Cotlove, E. H., Trantham, H. V. & Howman, R. L. (1958) An instrument and method for automatic, rapid, accurate and sensitive titration of chloride in biologic samples. *J. Lab. Clin. Med.* **51**, 461-468
- 2) Cotlove, E. H. & Hogben, C. A. M. (1962) Chloride. *In: Mineral Metabolism* vol. 2, part A, 109-173 (ed. by Comar & Bronner, Academic Press, New York).
- 3) 藤本 守 (1968) 体液の pH とその調節. 生理学大系 第1巻 261-304 (一般生理学) 医学書院
- 4) 藤本 守, 檜垣 鴻 (1969) 腎臓の組織区分の測定について. *日本生理誌* **31**, 155-163

- 5) Fujimoto, M. (1970) Determination of intracellular pH of erythrocytes by DMO method. J. Physiol. Soc. Japan **32**, 247-248
- 6) Fujimoto, M. & Higaki, K. (1970) The use of ^{36}Cl and ^{14}C -inulin for the determination of erythrocyte chloride concentration and trapped plasma in the centrifuged hematocrit in the rat. J. Physiol. Soc. Japan **32**, 329-330
- 7) 藤本 守 (1970) 腎と酸塩基平衡の調節. 医学のあゆみ **74**, 28-35
- 8) Fujimoto, M. : The determination of intracellular pH of various tissues in hyperchloremic acidoses, (*in preparation*).
- 9) Hastings, A. B. & Eichelberger, L. (1937) Exchange of salt and water between muscle and blood; effect of increase in total body water produced by intravenous injection of isotonic salt solutions. J. Biol. Chem. **117**, 73-85
- 10) 檜垣 鴻, 藤本 守 (1969) ラットの各種臓器の ^{14}C -イヌリンおよび ^{36}Cl 間隙について. 日本生理誌 **31**, 164-172
- 11) Hudson, J. B. (1969) Effect of ammonium chloride on rubidium-induced changes in muscle cell bicarbonate. Am. J. Physiol. **217**, 1105-1109
- 12) Kassirer, J. P., Berkman, P. M., Lawrenz, D. R. & Schwartz, W. B. (1965) The critical role of chloride in the correction of hypokalemic alkalosis in man. Am. J. Med. **38**, 172-189
- 13) 宮尾賢爾 (1967) DMO 法による細胞内 pH の測定と組織緩衝能の研究. 日本生理誌 **29**, 18-28
- 14) 奥村 修 (1958) 生体酸塩基平衡調節の生理的諸相. 特に酸負荷時の調節について. 日本生理誌 **20**, 966-987
- 15) 大槻稔司 (1963) 酸負荷時の細胞内液緩衝作用に関する研究 (II) 成犬への酸注入による研究. 日本生理誌 **25**, 176-184
- 16) Pitts, R. F. (1968) Physiology of Kidney and Body Fluids, 2nd ed. Year Book Publ., Chicago.
- 17) Schwartz, W. B. (1966) Role of chloride in acid-base balance. Proc. 3rd Internat. Congr. Nephrol. vol. 1, 148-157 (Washington)
- 18) Swan, R. C. & Pitts, R. F. (1955) Neutralization of infused acid by nephrectomized dogs. J. Clin. Invest. **34**, 205-212
- 19) Tannen, R. L., Bleich, H. L. & Schwartz, W. B. (1966) The renal response to acid loads in metabolic alkalosis. An assessment of the mechanisms regulating acid excretion. J. Clin. Invest. **45**, 562-572
- 20) Tobin, R. B. (1958) Varying role of extracellular electrolytes in metabolic acidosis and alkalosis. Am. J. Physiol. **195**, 685-692
- 21) Wesson, L. G. (1969) Physiology of the Human Kidney. Grune and Stratton, New York
- 22) Yoshimura, H., Fujimoto, M., Okumura, O., Sugimoto, J. & Kuwada, T. (1961) Three step regulation of acid base balance in body fluids after acid load. Jap. J. Physiol. **11**, 109-125
- 23) Yoshimura, H. (1965) Tissue buffering and control of acid-base balance in body fluid. Proc. 23rd Internat. Congr. Physiol. Sci. Ser. No. 87, 189-206

分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能に対する
温度および薬物の影響 612.014.43 : 612.014.469

西島博明, 米本恭三, 酒井敏夫
(東京慈恵会医科大学第二生理学教室)

Effect of temperature and agents on Ca-uptake of the fragmented sarcoplasmic reticulum Hiroaki NISHIJIMA, Kyozo YONEMOTO and Toshio SAKAI (*Department of Physiology, The Jikei University, School of Medicine*)

The rates of Ca-uptake and ATP hydrolysis of the fragmented sarcoplasmic reticulum (FSR) separated from the leg skeletal muscle of Japanese toad, were studied at various temperatures in the presence of caffeine, thymol and sodium desoxycholate.

1. In the drug free medium, the initial rate of Ca-uptake and ATP hydrolysis were inhibited at low temperature, but there was no significant difference in the maximum of Ca-accumulating capacity between 20°C and 5°C.

2. The Ca-uptake was not altered at 20°C in the presence of low concentration of caffeine. But the initial rate of Ca-uptake in the presence of caffeine was remarkably inhibited at 5°C.

3. The Ca-uptake was inhibited both at 20°C and 5°C in the presence of thymol. Especially the initial rate of Ca-uptake at low temperature was smaller than that at high temperature. At 20°C the rate of Ca-uptake of the thymol-treated FSR showed the maximum at 1 min after the beginning of reaction and then gradually decreased.

4. The initial rate of Ca-uptake and the Ca-accumulating capacity in the presence of sodium desoxycholate, showed the phenomena as well as the result obtained in the FSR treated with thymol at 20°C.

[J. Physiol. Soc. Japan (1972) 34, 28-39]

key words : fragmented sarcoplasmic reticulum, Ca-uptake, caffeine-RCC.

I. 結 言

カフェインは膜電位変化なしに骨格筋の拘縮を起こす (Axelsson & Thesleff 1958¹⁾). 拘縮を起こすに必要な濃度以下のカフェインで処理した後, 急速冷却を行なうと骨格筋は著明な収縮を起こす (Conway & Sakai 1960³⁾, Sakai 1965¹⁷⁾, Lüttgau & Öetliker 1968¹³⁾). また, このカフェイン処理筋の急速冷却によって生ずる rapid cooling contracture (RCC) は T 管 (transverse tubules) 破壊筋においても観察できる (Sakai et al. 1971²¹⁾).

カフェイン-RCC と類似の現象はチモールでも起こすことができる (Sakai et al. 1967¹⁸⁾, 1968¹⁹⁾).

カフェイン-RCC の機序に関しては, 筋小胞体, 特に, lateral sacs 中にとりこまれている

Ca イオンがカフェイン処理で遊離しやすくなり, これが急速冷却により速かに放出されるものと推論されている (Sakai 1965¹⁷⁾, Sakai et al. 1971²¹⁾). この Ca イオン放出の機序について Weber⁹⁾24)25) らは分離筋小胞体を用い, カフェイン存在下, および低温下における Ca イオンのとりこみ能を測定し, その測定結果からカフェイン存在下における低温効果は筋小胞体よりの Ca イオン放出が促進されるのであろうと推論した. その後 Ogawa (1970)¹⁵⁾ は Weber らとは別な実験方法 (Onishi & Ebashi 1963¹⁶⁾) により, 分離筋小胞体からの Ca イオン放出が低温下で著しいことを観察した. さらに Taniguchi & Nagai (1970)²²⁾ も分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ, 放出の実験結果から Sakai の rapid cooling contracture に対する機序を検討した.

今回, われわれも Weber²⁵⁾ と同様の方法により, 日本産ヒキガエル骨格筋からの分離筋小

胞体 (fragmented sarcoplasmic reticulum, FSR) を用い、カフェイン (caffeine)、チモール (thymol)、および、デオキシコレート (sodium desoxycholate)、処理と低温下での Ca イオンとりこみ能を研究したので報告する。

II. 実験材料および方法

1. 分筋小胞体の調整法

実験材料には日本産ヒキガエル *bufo vulgaris japonicus* の下肢骨格筋が用いられた。この下肢筋を十分に細挫し、筋肉重量の3倍容の 40 mM Tris-HCl 緩衝溶液 (pH 7.2), 80 mM KCl を含む溶液を用い、シリコンで塗布したステンレス刃のワーリングブレンダーでホモジネイトする。操作はすべて 4°C 以下で行ない、10秒間ホモジネイトし、1分間休止する、この操作を繰り返し、合計60秒間ホモジネイトを行なった。最終ホモジネイトは pH 6.8 になるように注意して上記の操作を行なった。このようにホモジネイトしてから冷凍遠心機 (Hitachi, 18 PR) で 4500 rpm (Rota No, 12), 15分間遠心し、筋原線維、細胞核、等を除いた後、この上清を 8500 rpm (Rota No, 12) で50分間遠心することによって、さらにミトコンドリアを除いた。

次に、この上清を東洋濾紙 No. 5 A を用いて濾過した。この濾液を 17500 rpm (Rota No, 18), 60分間遠心し、この沈渣をテフロンホモジナイザーを用いて 50 mM KCl, 20 mM Tris-maleate, (pH 6.8), 緩衝液中に均等に浮遊する。この溶液を再度 17500 rpm (Rota No, 18), 60分間遠心する方法により洗滌し、その沈渣を 50 mM KCl, 20 mM Tris-maleate, (pH 6.8), 緩衝溶液に浮遊し、これを筋小胞体試料とした。試料は 4°C 以下に保存し、作成日より3日以内に実験に供した。これは Ca イオンとりこみ能；および ATPase 活性は作成日から3日目で、それぞれ 90%, 120% と変化し、以後急速に活性の減少がみられる為である。

2. 蛋白質定量

分筋小胞体の蛋白質量は Lowry¹²⁾ 法、あ

るいは Micro-Kjeldahl 法によった。

3. 分筋小胞体の Ca イオンとりこみ能の測定

反応溶液は 50 mM KCl, 1.0 mM MgCl₂, 20 mM Tris-maleate buffer, (pH 6.8), 0.1 mM ⁴⁵CaCl₂, 100~250 μg protein/ml, 1.0 mM ATP (adenosin-5-triphosphate disodium salt, Sigma. Co) を用いた。

ATP を添加し反応を開始させてから一定時間毎に milipore filter で試料と溶液を分離することによって反応を止めた。濾過に用いた濾紙の pore size は 0.3~0.45 μ である。また、濾過に要する時間は3秒以内となるように吸引力および分筋小胞体の蛋白量を調節した。上記の方法によってえられた濾紙上の分筋小胞体と濾液の一部を用いて、それぞれに含まれている ⁴⁵Ca を gass flow counter (Aloka TDC 2 型) で測定し、この結果から分筋小胞体にとりこまれた Ca イオン量を求めた。

本実験では ATP 加水分解により能動的にとりこまれた Ca イオンを求めるために、ATP を添加しない反応溶液を作り、ATP 添加したものと同様の実験を行なった。ATP 存在下での Ca イオンとりこみ能の測定は Weber & Herz (1968)²⁵⁾ にしたがって、反応溶液中に含まれる全 ⁴⁵Ca イオンの放射能と濾液中の ⁴⁵Ca との放射能の差をもって分筋小胞体にとりこんだ Ca イオン量を算定した。しかし、ATP の添加がなくても Ca イオンは分筋小胞体に吸着されることがわかったので、Ca イオンが反応溶液に加えられてから、分筋小胞体に吸着されると思われる3分後に milipore filter で分筋小胞体を反応溶液と分離し、ATP, ⁴⁵CaCl₂ を含まない溶液で3回洗滌し、各濾液と、分筋小胞体に残った ⁴⁵Ca イオンを測定し、分筋小胞体に吸着する Ca イオン量を算定した。

本実験では上記の如き吸着量は薬物処理を行なわなかった分筋小胞体においては ATP 存在下で行なった最大 Ca イオンとりこみ量の約 1.0% の値を示した。

カフェイン、チモール、デオキシコレートな

どの薬物で処理した場合は、その吸着量は僅かに増加し、特に、チモール存在下では著明であり、用いられた濃度に比例して増加する傾向があった。カフェイン、デオキシコレートでは逆に僅かの減少を示し、特に、低温下ではさらに吸着量の減少がみられた。しかし、今回はATP加水分解による能動的 Ca イオンとりこみ量の測定を主体にしたので、以上の Ca イオン吸着に関しては考慮を払わなかった。

4. 分離筋小胞体の ATPase 活性の測定

反応溶液の条件はすべて Ca イオンとりこみ能の測定と同一条件で行ない、Ca-Mg dependent ATPase (extra ATPase), Mg-dependent ATPase (basal ATPase) 活性を測定した。ATP 添加後、一定時間で 5% TCA (trichloroacetic acid) 溶液を加えて反応を止め、溶液中

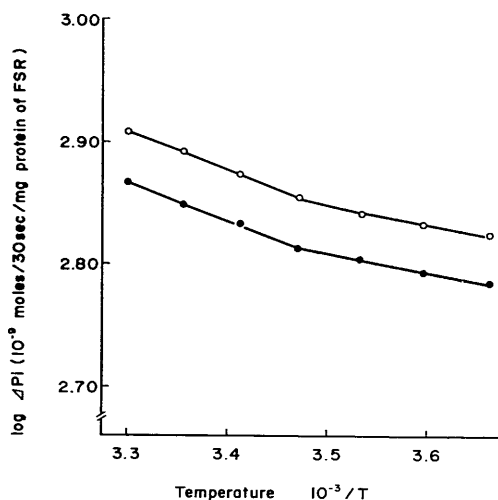


Fig. 1. Relationship between the extra ATPase activity or the basal ATPase activity and temperature. The total ATPase activity and Mg-dependent ATPase activity of the sarcoplasmic reticulum were measured in the reaction mixture containing 50 mM KCl, 1.0 mM MgCl₂, 20 mM Tris-maleate (pH 6.8), 1.0 mM ATP, 0.16 mg protein/ml of reticulum and in the presence or absence of 0.1 mM CaCl₂. Reaction was started by addition of ATP. —○—; extra ATPase, (0.1 mM CaCl₂), —●—; basal ATPase, (in the absence of CaCl₂). Ordinate, logarithm of Pi (10⁻⁹ moles/30 sec/mg protein). Abscissa, reciprocal of the absolute temperature.

の遊離無機磷 (Pi) の量を Fiske-Sabbarow⁶⁾法の改良法により測定し、分離筋小胞体 1.0 mg 蛋白質量当りの遊離無機磷量を計算し、これをもって、ATPase 活性とした。Fiske-Sabbarow 法の改良法は Furukawa¹⁰⁾等の変法を基にして行なった。

Ⅲ. 結 果

1. 分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能と ATPase 活性について

ウサギ骨格筋からの分離筋小胞体 ATPase 活性は低温下で低く、その対数値は絶対温度の逆数に対し直線的関係が成立するといわれる。(Inesi & Watanabe 1967¹¹⁾; Hasselbach et al. 1970⁸⁾). 同様に、ヒキガエル下肢骨格筋分離筋小胞体の 2~25°C までの各温度における ATPase 活性を求めた。その結果、分離筋小胞体の extra ATPase 活性, basal ATPase 活性は共に温度に依存し、各 ATPase 活性の対数値と絶対温度の逆数 (1/T × 10⁻³) の間には 15°C を境にして、高温部、低温部において直線関係が成立した。Extra ATPase 活性と basal ATPase 活性との差 (Ca-dependent ATPase) は一定でなく、温度の低下にしたがって低下した (Fig. 1).

次に、20°C における分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は反応開始後約 30 秒で最大値に達した。また 5°C での Ca イオンとりこみ量の経時変化曲線の初期においては、その立上りが緩徐で、反応開始後約 2 分で 20°C 条件下の最大量と等しい値に達した (Fig. 2)。これは Weber & Herz (1968)²⁵⁾の実験と一致した。

以上の実験結果から、各温度 (2~25°C) での反応開始後 30 秒時の Ca イオンとりこみ量を求めると、Fig. 2 の如くになった。分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は ATPase 活性と同様に低温条件では低下し、その Ca イオンとりこみ量の対数値と絶対温度の逆数との関係は先に述べた ATPase 活性の場合と同様であった。さらに、以上の Ca イオンとりこみ能と Ca-dependent ATPase 活性から求められる遊離

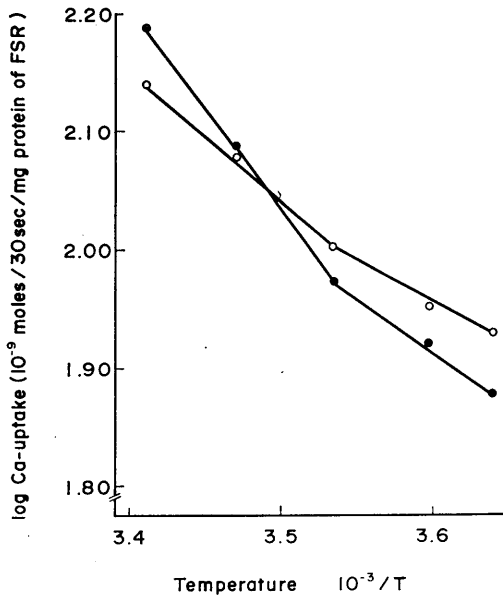


Fig. 2. Temperature dependence of Ca-uptake activity in the sarcoplasmic reticulum treated with 1.0 mM caffeine. Sarcoplasmic reticulum was incubated in the presence or absence of caffeine for 3 min at various temperatures, before addition of ATP. Calcium uptake was measured in the reaction mixture containing 50 mM KCl, 1.0 mM MgCl₂, 20 mM Tris-maleate (pH 6.8), 0.1 mM ⁴⁵CaCl₂, 1.0 mM ATP and 0.2 mg protein/ml of reticulum. Reaction was started by addition of ATP and was terminated by filtration through a milipore filter. —○—: control. —●—; in the presence of 1.0 mM caffeine. Ordinate, logarithm of Pi (10⁻⁹ moles/30 sec/mg protein). Abscissa, reciprocal of the absolute temperature.

無機燐量との比はいずれの温度でも 1.8~2.0 の間にあった。これは、Ca イオンとりこみ量と ATPase 活性との比が高温部でも、低温部でも、その比に変化がないことを示している。

2. カフェイン処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能について

10 mM 以下のカフェイン濃度で分離筋小胞体を、20°C で 3 分間処理し、反応開始後 30 秒での Ca イオンとりこみ量を求めた (Fig. 3)。

その結果、カフェイン濃度と Ca イオンとりこみ量との関係は Fig. 3 に示した如くなり、2.0 mM 以下の低濃度処理を行なった場合は無

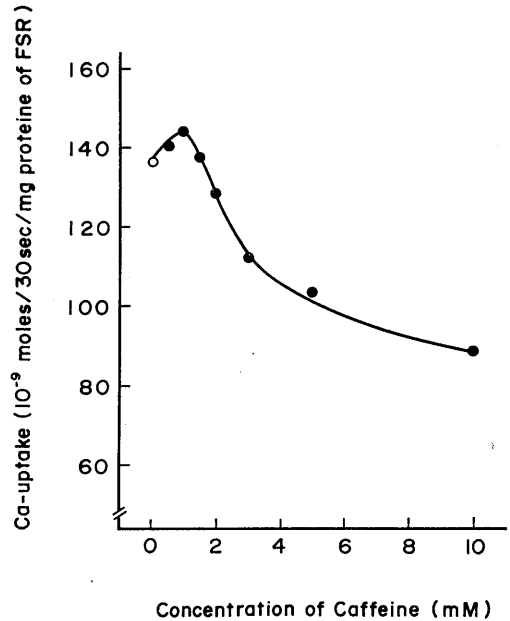


Fig. 3. Effect of caffeine on the Ca-uptake activity. The sarcoplasmic reticulum was incubated in the presence of caffeine for 3 min at 20°C, before addition of ATP. Reaction was terminated by filtration through a milipore filter at 30 sec after addition of ATP. Reaction condition was the same as described in Fig. 2. —○—; control, —●—; in the presence of various concentration of caffeine.

処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ量よりも僅かに増加する傾向があった。しかし、2.0 mM 以上のカフェイン濃度では濃度が増すにしたがって Ca イオンとりこみ量の減少は著明であった。1.0 mM 前後の低濃度カフェインで処理した分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は対象に比し、その反応初期には低下していないことが認められた。

次に、20°C、1.0 mM カフェイン処理分離筋小胞体における Ca イオンとりこみ量は反応開始後 15 秒で無処理の対象に比し低値であったが、30 秒では僅かに高値を示した。しかし、最大値に達してから後は経時的に減少した (Fig. 4)。

無処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能の温度依存性に関しては Fig. 2 に示したが、

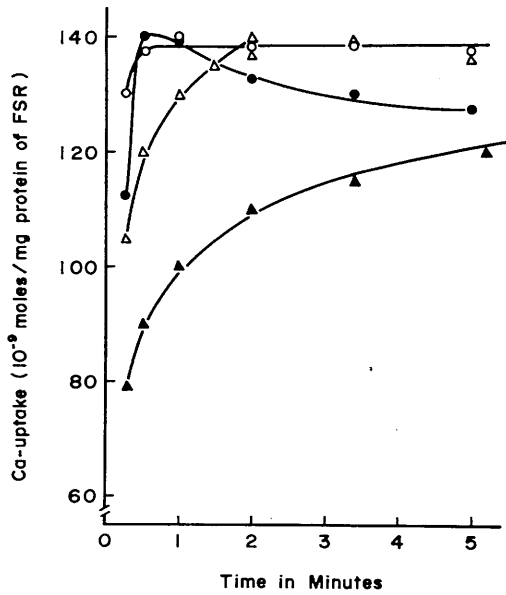


Fig. 4. Effect of caffeine and temperature on the Ca-uptake activity. Before addition of ATP, the sarcoplasmic reticulum was incubated in the presence or absence of caffeine for 3 min at 20°C or 5°C respectively. The experimental condition was the same as described in Fig. 2. —○—; 20°C control, —△—; 5°C control, —●—; 20°C 1.0 mM caffeine, —▲—; 5°C 1.0 mM caffeine.

1.0 mM カフェイン処理での反応開始後30秒時の Ca イオンとりこみ量の対数値と絶対温度の逆数との関係を見ると、15°C以上では対象に比して僅かの増加を示し、それ以下では逆に低下した。しかし、Fig. 4 で示した如く、5°C 1.0 mM カフェイン、3 分間処理による分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能の経時的変化曲線は対象に比し著しく抑制的であった。最終的には、その Ca イオンとりこみ量は20°C、無処理分離筋小胞体の持つ最大 Ca イオンとりこみ量まで達した。

3. チモール処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能について

Gergely et al. (1959)⁷⁾ によれば分離筋小胞体に少量のチモール結晶を加えると、その ATPase 活性は不活化されるという。しかし、その時のチモール濃度に関しては記載がなかった。そこで、われわれは室温でのチモール拘縮を指標にして濃度を 100 μ M 以下とした実験を行なった。20°C、3 分間、各種濃度のチモールで処理した分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能の実験結果は Fig. 5 (A) の如くになった。25 μ M チモールで処理された分離筋小胞体の最

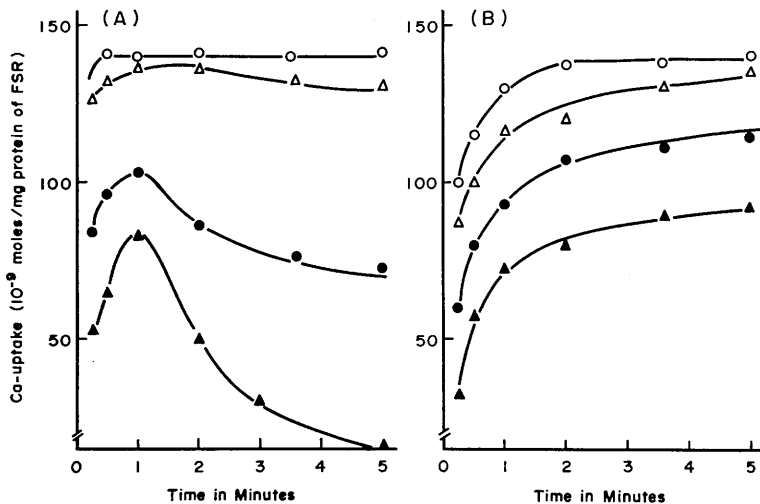


Fig. 5. Effect of thymol and temperature on the Ca-uptake activity. Before addition of ATPase, the sarcoplasmic reticulum was incubated in the presence or absence of thymol for 3 min at 20°C (A) or 5°C (B) respectively. The experimental condition was the same as described in Fig. 2. —○—; control, —△—; 25 μ M, —●—; 50 μ M, —▲—; 100 μ M thymol.

大 Ca イオンとりこみ量を示す時点は、反応開始後約 1 分で、その後は減少した。この傾向は 50~100 μ M チモール処理でさらに著しくなり、最大 Ca イオンとりこみ量に達してから以後の減少は一層急峻となった (Fig. 5 A).

次に、低温下 (5°C) で同様な実験を行なったところ、チモール処理による Ca イオンとりこみ能は無処理の対象と比較して同一傾向であったが、その Ca イオンとりこみ量の絶対値は減少した。この Ca イオンとりこみ量の減少はチモール濃度に依存し、濃度が高いと、その Ca イオンとりこみ量も減少した (Fig. 5 B)。しかし、20°C 条件下のような Ca イオンとりこみ量が反応開始後 1 分で最大値を示す如き現象は認められず、時間経過と共に漸次増加した。以上はチモールで 3 分間処理した後 ATP 添加し、以後 Ca イオンとりこみ能を測定したものであるが、これとは別に、ATP を添加しない場合の Ca イオン吸着量をも検討した。

ATP を添加しない場合の分離筋小胞体に吸着する Ca イオン量は ATP 加水分解による能動的 Ca イオンとりこみ量に対し僅少ではあるが、20°C においては処理の延長と共に漸次増大

し、濃度の増大でこの傾向は著しくなった。しかし、この Ca イオン吸着量は 5°C ではその値は小さく、低温条件である限り、時間経過ともなう増加の傾向は見られなかった。

4. デオキシコレート処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能について

分離筋小胞体のデオキシコレート処理は 20°C、3 分間とし、その後に ATP 加水分解による Ca イオンとりこみ能の測定が行なわれた。

分離筋小胞体の ATPase 活性、および Ca イオンとりこみ能については Gergely et al. (1959)⁷⁾, Ebashi & Lipmann (1962)⁴⁾らの報告があるが、用いられたデオキシコレートの濃度が極めて高かった。すなわち、前者は 1.0% (約 24 mM)、後者は 0.2~0.8 mM であった。彼等によると、これらの濃度で分離筋小胞体を処理すると、その ATPase 活性は著しく低下するという。

われわれは、Sakai et al. (1970)²⁰⁾が室温で観察される拘縮に必要な濃度は 50 μ M 以下であると報じているので、50 μ M 以下の低濃度デオキシコレートを使用し、カフェイン、チモールの場合と同様の方法によって処理した分離筋

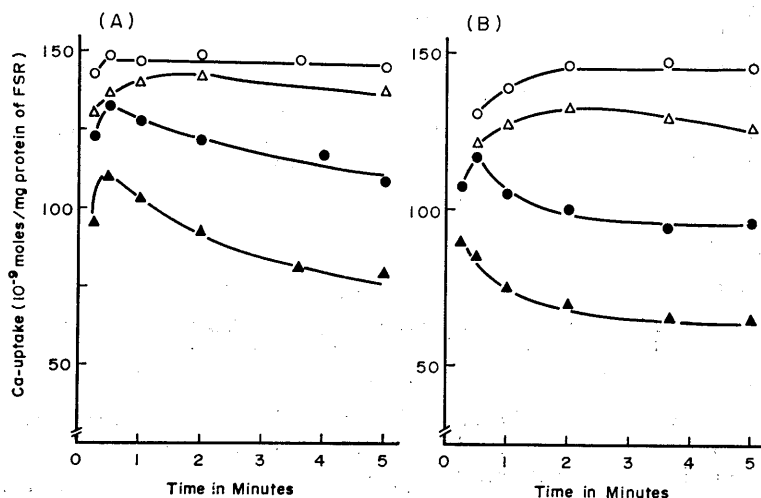


Fig. 6. Effect of sodium desoxycholate and temperature on the Ca-uptake activity. Before addition of ATP, the sarcoplasmic was incubated in the presence or absence of sodium desoxycholate for 3 min at 20°C (A) or 5°C (B) respectively. The experimental condition was the same as described in Fig. 2. —○—; control, —△—; 12.5 μ M, —●—; 25.0 μ M, —▲—; 50 μ M sodium desoxycholate.

小胞体の Ca イオンとりこみ能の経時的変化曲線を求めてみた (Fig. 6).

20°C, 12.5 μM デオキシコレート処理分離筋小胞体での ATP 加水分解にともなう Ca イオンとりこみ能に関しては, 対象に比し僅かの低下しかみられなかった. しかし, 25~50 μM 処理になると Ca イオンとりこみ能抑制の傾向が増強し, さらに, Ca イオンとりこみ量は反応開始後30秒で最大値を示し, それ以後では減少した. この傾向は処理濃度の増大にしたがい著明となった (Fig. 6 A).

次に, 低温下 (5°C) で同様の実験を行なうと Fig. 6 B の如くになった. すなわち, 25~50 μM 処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ量は15~30秒で最大値を示し, それ以後は 20°C の場合と同様に, 減少の経過をとった. 12.5 μM 処理ではこのような現象はみられず, むしろ, 20°C, 12.5 μM 処理の場合と同様の傾向を示

し, 最大値を示した後の減少傾向も 20°C の場合よりも僅かな高値を示す程度であった. 一般にデオキシコレート処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は低温条件下では反応開始の初期では Ca イオンとりこみ量の減少, および, 最高値を示した後の Ca イオンとりこみ量の減少率 (Ca イオン保持能力) は 20°C の場合よりも著明であった (Fig. 6 B).

ATP を添加しなかった場合の Ca イオンの分離筋小胞体に対する吸着量はチモール処理とは異なり, その吸着量の増大は認められなかった.

5. 分離筋小胞体の相対 Ca イオンとりこみ能について

分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は温度条件, ならびに, カフェイン, チモール, およびデオキシコレート処理により, 初期 Ca イオンとりこみ能と, その Ca イオン最大とりこみ

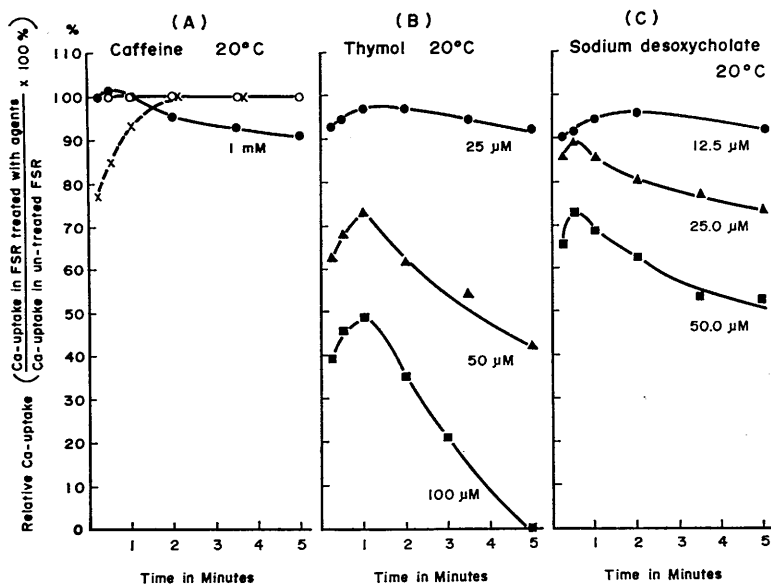


Fig. 7. Relative Ca-uptake of the sarcoplasmic reticulum treated with caffeine, thymol and sodium desoxycholate at 20°C. Relative Ca-uptake was calculated by the equation of $\frac{\text{Ca-uptake of FSR treated with agents}}{\text{Ca-uptake of untreated FSR}} \times 100 (\%)$ from the results shown in Fig. 4, 5 (A)

and 6 (A); Relative Ca-uptake was calculated by the equation of

$\frac{\text{Ca-uptake of untreated FSR at } 5^{\circ}\text{C}}{\text{Ca-uptake of untreated FSR at } 20^{\circ}\text{C}} \times 100 (\%)$ from the results of control at 20°C and 5°C

shown in Fig. 4, 5 (A), and 6 (A); —×—, Relative Ca-uptake of untreated FSR at 20°C ;

—○—.

能力がそれぞれ異なる。また、各薬物処理を行なった場合、その影響は温度条件でそれぞれ異なった (Fig. 4, 5, 6)。そこで、薬物のみの効果を知るためには、各温度における無処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能と薬物処理を行なったものの Ca イオンとりこみ能とを比較することが必要であった。そこで、上述した実験成績 (Fig. 4, 5, 6) から次の如き計算を行なった。すなわち、測定時間毎の各 Ca イオンとりこみ量を代入して、各数値を求め、この値を相対 Ca イオンとりこみ量 (Ca-uptake volume) とし、経時的变化曲線を求めた。これを相対 Ca イオンとりこみ能 (relative Ca-uptake activity) と名づけることにした。

$$\text{Relative Ca-uptake} = \frac{\text{Ca-uptake of treated FSR}}{\text{Ca-uptake of untreated FSR}} \times 100 (\%)$$

幸い、20°C における無処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ量は ATP 添加後 30 秒で最大値に達し、以後この値に変化がなかった。した

がって、相対 Ca イオンとりこみ量はこの値に対する百分率標示となる。このようにして求められた値から Fig. 7 が作製された。

次に、5°C における各薬物処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能を、この温度における無処理分離筋小胞体と比較し、上述の計算方法で相対 Ca イオンとりこみ能を求めてみた。すでに低温下では Ca イオンとりこみ能は抑制されることがわかっているのので、各薬物処理の場合の Ca イオンとりこみ能は、それ以上に変化を受け、その変化分が薬物処理効果となる。この算出方法は 5°C における実験結果 (Fig. 4, 5 B, 6 B) から上述の計算式をもって求め Fig. 8 に示した。

上述した如く、5°C では 20°C に比較して、分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は抑制される。そこで、無処理分離筋小胞体の 5°C での Ca イオンとりこみ能を 20°C の場合と比較して相対 Ca イオンとりこみ能を上述の如き計算方法によって求めてみた。この結果を Fig. 7 A

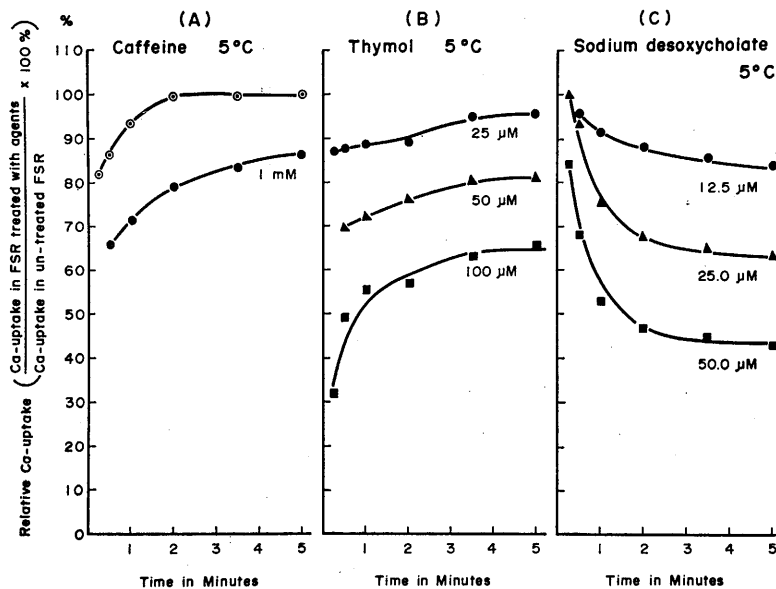


Fig. 8. Relative Ca-uptake of sarcoplasmic reticulum treated with caffeine, thymol and sodium desoxycholate at 5°C. Relative Ca-uptake was calculated by the equation of $\frac{\text{Ca-uptake of FSR treated with agents at 5°C}}{\text{Ca-uptake of untreated FSR at 5°C}} \times 100 (\%)$ from the result shown in Fig. 4, 5 (B), and 6 (B). Relative Ca-uptake of untreated FSR at 5°C ; $\bullet\text{---}\bullet$.

に示した。

IV. 考 察

分離筋小胞体の ATPase 活性, および Ca イオンとりこみ能の温度依存性に関しては Inesi & Watanabe (1967)¹¹⁾, Hasselbach et al. (1970)⁸⁾らの研究があり, 低温条件下では ATPase 活性, Ca イオンとりこみ能は共に低下することが知られている。実験結果で述べた如く, ヒキガエル下肢骨格筋よりの分離筋小胞体においては, 15°Cを境に高温部, 低温部のそれぞれにおいて, Fig. 1, Fig. 2, の如き関係が成立した。これは15°Cを境とした高温部, 低温部においては, それぞれにおける Ca イオンとり込みの反応エネルギー系が異なることを示していると思われるが, 現在その機序に関しては不明である。

1.0 mM カフェイン存在下での 5°C における Ca イオンとりこみ能は, カフェインあるいは低温というそれぞれの条件の相乗効果が著しく, 20°C, 1.0 mM カフェイン存在下では Ca イオンとりこみ能は低下することがないにもかかわらず, 5°C においてはその低下が著しかった。

Sakai (1965)¹⁷⁾ は生筋を用いたカフェイン急速減温収縮(RCC)の機序に関し, 急速冷却により筋小胞体からの, (a) 一時的 Ca イオン放出, (b) その後の Ca イオンとりこみ能の低下, があることを推論した。最近 Ogawa (1970)¹⁵⁾ はカフェインによる分離筋小胞体からの Ca イオン放出は25°Cよりも11°Cにおいて著しかったと報告し, Weber & Herz (1968)²⁵⁾ と同様の結果をえた。したがって, Ogawa (1970)¹⁵⁾ はカフェインは分離筋小胞体中の Ca イオンを放出させる releaser であるとも推論した。

Sakai et al. (1970)²⁰⁾ はカフェイン-RCC の長時間観察を行ない, カフェイン-RCC の最大張力は長くその値を維持することなく, その後は弛緩過程に移行し, 低温持続にもかかわらず張力は失われることを報告した。さらに, 低温条件下で, その張力が静止張力に戻った時点で同一標本に電気刺激, あるいは高カリウムリング

ル液による脱分極を与えると低温条件下にもかかわらず収縮が可能であった (未発表 Sakai)。このことから, 低温条件下での収縮は急速冷却により放出された Ca イオンが筋小胞体にとり込まれ, このとり込まれた Ca イオンが電気刺激, および脱分極により再び放出されたものと考えられる。この点, 低温下でも分離筋小胞体は十分に Ca イオンとりこみ能を有し, しかも Ca イオンとりこみ容積, あるいは最大 Ca イオンとりこみ量に変化がみられず, 室温におけると同量の Ca イオンをとりこむことができる。この実験事実 (Fig. 4) は生筋での inactivation 過程の解釈に対し, 何らかの支持を与えるものと思われる。

すでに低濃度チモール処理筋における急速減温収縮 (チモール-RCC) (Sakai et al. 1967¹⁸⁾, 1968¹⁹⁾), およびチモール存在下での K 拘縮の増強 (Ebashi 1965)⁷⁾ については良く知られている。この事実はチモールによる筋小胞体系の結合 Ca が遊離しやすくなることを示している。分離筋小胞体に対するチモールの作用は ATPase 活性の不活化があり (Gergely et al. 1959⁷⁾), 本実験結果の Fig. 5 で述べた如く Ca イオンとりこみ能の低下をもたらした。すなわち, 筋細胞中の遊離 Ca イオン量の増加をもたらすことになる。事実, 室温において, 閾値濃度チモールで生筋を処理すると収縮を起こす (Sakai et al. 1967¹⁸⁾), ところが, すでに実験結果において述べた如く, 20°C, 50 μ M チモール処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は 1.0 mM カフェインの場合と異なり低下し, また, Ca イオンとりこみ量にも変化がもたらされた。これについて, われわれは ATP を添加しない場合のチモール処理によって分離筋小胞体は著明な Ca イオン量の吸着現象があることをみた。この現象は Carvalho (1968)²⁾ のいう non-exchangeable Ca-bound の増大とは考えられず, むしろ, 分離筋小胞体の膜系に対するチモールの作用により, 分子レベルでの膜構造変化が起こり, このために, Ca イオン吸着量が増大したものと考えられる。

5°C 条件下での分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は、20°C の場合よりも反応初期過程での Ca イオンとりこみ能が低下していた。しかし、Ca イオンとりこみ量は時間経過と共に低値ながら徐々に増加した。また、前記した ATP を添加しない場合の分離筋小胞体膜系に吸着する Ca イオン量は、20°C の場合よりも低値であった。これはチモールによる膜構造変化が、低温条件下であるために弱められたものと考えられる。

以上のチモール処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能をカフェイン処理時と比較すると、カフェインの約 1/30 量のチモールで十分にカフェインと同様の Ca イオンとりこみ能を示すことがわかった。これは低温下においても同一結果であった。このようなチモール；カフェインの濃度比については Ogawa (1970)¹⁵⁾ により同様の値が報告されている。

デオキシコレート処理筋の急速減温収縮 (Sakai et al. 1970)²⁰⁾ はカフェイン、チモール処理の場合と異なり、不可逆的収縮を示し、たとえ常温にもどうしても速かな弛緩がみられず、むしろ、収縮残遺が観察された。この時の電子顕微鏡像によると、lateral sacs が異常に膨化して、膜構造の破壊が起こっているように観察されている。Tashiro et al. (1957)²³⁾ は肝ミクロゾームを用いて、デオキシコレートは膜系蛋白層に吸着し、その結果 lipo protein のミセルの結合形態がゆるくなり、膜破壊の過程をとると報告している。また Gergely et al. (1959)⁷⁾、Martonosi et al. (1968)¹⁴⁾ も分離筋小胞体を用いて同様な観察を行なった。さらに、デオキシコレート処理によって、分離小胞体の活性、Ca イオンとりこみ能、および、ATP-ADP 交換反応等の機能が低下することも知られている (Ebashi & Lipmann 1962⁴⁾).

本実験で用いた低濃度のデオキシコレート処理でも分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は、すでに、20°C、チモール処理の項で述べたような生理状態から離れているような結果であった。すなわち、20°C、および 5°C でも ATP

加水分解による Ca イオンとりこみ能はあるが、分離筋小胞体中にとりこんだ Ca イオン量が一定とりこみ量以上になると、その Ca イオン量を保持することができず、放出の過程に入ってしまう。さらに、低温下 (5°C) ではカフェイン、チモール処理の場合と異なり、Ca イオン保持能力の低下が一層著しくなった。これらのことから、前述のデオキシコレート-RCC はカフェイン、チモール-RCC の場合と異なり、弛緩作用を失うことにもなり、不可逆的収縮過程に入るものと考えられる。

次に、すでに生筋で観察されている各薬物処理による急速冷却の拘縮現象 (Sakai et al. 1967¹⁸⁾、1970²⁰⁾、1971²¹⁾) と本実験結果から求められた Fig. 7, Fig. 8 に示した Ca イオンとりこみ能の相対値とを対比してみた。生筋は単に急速冷却だけでは収縮は起きにくい (Sakai et al. 1965¹⁷⁾)。また、室温で 1.0 mM カフェイン、25.0 μ M チモール、あるいは 12.5 μ M デオキシコレートは拘縮が生じにくい。このことは本実験での Ca イオンとりこみ能の相対値からみると、これらの濃度は拘縮閾値濃度以下であることが理解できる。すなわち、この程度の薬物存在下では、その Ca イオンとりこみ能には変化を与えていないといえよう。ところが、チモール濃度が 50 μ M、デオキシコレート濃度が 25.0 μ M 以上になると、Ca イオンとりこみ能の相対値は反応開始 1 分後から減少し、初期にとりこまれた Ca イオンが再び遊離されてしまう。これは生筋での拘縮発生の可能性を示唆するものといえる。

1.0 mM カフェイン処理筋は急速冷却により収縮し、短時間ではあるが、最大張力を維持した後、弛緩する。このことは本実験で、5°C における 1.0 mM カフェイン処理分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ量の相対値が初期には低値であった。これは遊離 Ca イオンの増大を意味し、これが生筋の場合の収縮、あるいは張力維持と関連し、さらに時間経過に伴う Ca イオンとりこみ量の増大は生筋の場合の弛緩と対応するものとする、カフェイン-RCC の機序を説明

するの都合が良い。

以上の如き推察が許されるとすれば、生筋でのチモール-RCC の場合も Ca イオンとりこみ能の相対値から説明可能である。すなわち、チモール濃度が増大すると、Ca イオンとりこみ能の相対値は初期において低値であった。しかも時間経過に伴う Ca イオンとりこみ量の相対値の増大はカフェイン処理の場合よりも緩徐であった。このことから、チモール-RCC の収縮過程の延長、および比較的弛緩しにくい現象が期待できる。デオキシコレートを使用した場合には、何れの濃度においても、初期過程での Ca イオンとりこみ能の相対値は大きい。最大値を示した後、著明な減少を示した。すなわち、初期過程では遊離 Ca イオン量がきわめて僅かであり、処理時間経過に伴って遊離 Ca イオン量が増大することを意味している。しかもこの増大した遊離 Ca イオンは再び分離筋小胞体にとりこまれることはなかった。事実、生筋で急速冷却を行なっても、カフェイン、チモール処理の場合と異なり、直ちに収縮することはなく、立上り速度の遅い収縮経過をとり、しかも、この収縮は前述した如く不可逆的であった。

本論文で観察した分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は、生筋の拘縮現象のすべてを追跡できたものではない、しかし本実験結果は拘縮の最大張力の時点から以後の弛緩過程を追跡したものと対応できることが考えられる。

V. 要 約

1. 日本産ガマ (ヒキガエル) 下肢骨格筋から分離した筋小胞体の ATPase 活性、および Ca イオンとりこみ能は温度存在性があり、15°C を境とした高温部、低温部において、その活性の対数と絶対温度の逆数の間には直線的関係があった。15°C を境とした反応初期の Ca イオンとりこみ能は低温部で抑制的であったが、その最大 Ca イオンとりこみ量は 20°C のそれと同一であった。

2. 5°C, 1.0 mM カフェイン処理分離筋小胞

体の Ca イオンとりこみ能は低温条件だけの場合よりも著しく抑制された。

3. 分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能はチモール処理によって抑制される。しかし、25.0 μ M チモール処理では 20°C, 5°C で共に Ca イオンとりこみ能の抑制は僅かであったが、これ以上の濃度 (50~100 μ M) では著しい抑制があり、特に低温下において著しかった。

20°C 条件下、チモール濃度が 25 μ M 以上で処理された分離筋小胞体の場合には、1 分前後からとりこまれた Ca イオンが遊離される過程をとり、チモール濃度の増大と共に遊離量は著明になった。しかし、5°C では 20°C で見られた現象は観察されず、緩徐ではあるが、Ca イオンとりこみ能の増加がみられた。一般に分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能は、チモール濃度の増加に伴い低値を示した。

4. 分離筋小胞体のデオキシコレート処理による Ca イオンとりこみ能は、20°C でみられるチモール処理の現象に類似した。すなわち、20°C, 5°C の何れの場合においても一時的にとりこまれた Ca イオンは再び遊離する。この現象は、25 μ M 以上の濃度によるデオキシコレート処理分離筋小胞体で観察された。

5. 以上の実験結果から、カフェイン、チモール、デオキシコレート処理剔出筋で観察された rapid cooling contracture の機序が討論された。

本研究は文部省科学研究費補助金 (特定研究-生物物理および RCC 研究基金) により行なわれた。

文 献

- 1) Axelsson, J. & Thesleff (1958) Activation of the contractile mechanism in striated muscle. *Act. Physiol. Scand.* **44**, 55-66
- 2) Carvalho, A. P. (1968) Calcium binding properties of sarcoplasmic reticulum as influenced by ATP, caffeine, quinine, and local anesthetics. *J. Gen. Physiol.* **52**, 622-641
- 3) Conway, D. & Sakai, T. (1960) Caffeine Contracture. *Proc. Nat. Acad. Science.* **46**, 897-903
- 4) Ebashi, S. & Lipmann, F. (1962) Adenosin triphosphatelinked contraction of calcium ion in

- pasticulate fraction of rabbit muscle. *J. Cell Biol.* **14**, 389-400
- 5) Ebashi, S. (1965) The sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling. Edited by Ebashi, S., Oosawa, F., Sekine, T. & Tonomura, Y., *Molecular biology of muscular contraction*. 197-206. Igaku Shoin LTD. Tokyo and Osaka.
 - 6) Fiske, C. H. & Subbarow, Y. (1925) The calorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* **66**, 375
 - 7) Gergely, J., Kaldor, G. & Briggs, F. N. (1959) Participation of a dialyable cofactor in the relaxing factor system of muscle. II, Studies with myofibrils ATPase. *Biochem. Biophys. Acta.* **34**, 218-224
 - 8) Hasselbach, W., Makinose, M. & Fien, W. (1970) Activation and inhibition of the sarcoplasmic calcium transport. *Calcium and Cellular function*. 75-84. Macmillan and Co. LTD.
 - 9) Herz, R. & Weber, A. (1965) Caffeine inhibition of Ca-uptake by muscle reticulum. *Federation Proc.* **24**, 208
 - 10) 古川美採, 種田雅子, 中村康吉, 春日誠次, 吉川春寿 (1952) 比色法による磷定量についての検討. *日本生化学誌* **24**, 76-82
 - 11) Inesi, G. & Watanabe, S. (1967) Temperature dependence of ATP hydrolysis and calcium uptake by fragmented sarcoplasmic membranes. *Arch. Biochem. Biophys.* **121**, 665-671
 - 12) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randal, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275
 - 13) Lüttgau, H. C. & Öetliker, H. (1968) The action of caffeine on the activation of the contractile mechanism in striated muscle fiber. *J. Physiol.* **194**, 51-74
 - 14) Martonosi, A., Donty, J. & Halpin, R. A. (1968) Sarcoplasmic reticulum. III, The role of phospholipid in the adenosin triphosphatase activity and Ca transport. *J. Biol. Chem.* **243**, 61-70
 - 15) Ogawa, Y. (1970) Some properties of frog fragmented sarcoplasmic reticulum with particular reference to its response to caffeine. *J. Biochem. (Tokyo)* **67**, 667-683
 - 16) Onishi, T. & Ebashi, S. (1963) Spectrophotometrical measurement of instantaneous calcium binding of the relaxing factor of muscle. *J. Biochem. (Tokyo)* **54**, 506-511
 - 17) Sakai, T. (1965) The effect of temperature and caffeine on activation of the contractile mechanism in the striated muscle fibers. *Jikei. Med. J.* **12**, 88-102
 - 18) Sakai, T., Fujii, K. & Takemoto (1967) Thymol contracture and rapid cooling contraction of the thymol treated muscle fibers. *Jikei. Med. J.* **14**, 164-176
 - 19) Sakai, T., Fujii, K. & Shimizu, R. (1968) "Rapid Cooling Contraction" of the thymol-treated muscle fibers. *Jikei. Med. J.* **15**, 187-201
 - 20) Sakai, T., Fujii, K. & Muramatsu, S. (1970) The character of Desoxycholate-treated fibers in rapid cooling contracture and electron microscopic studies. *Jikei. Med. J.* **17**, 55-63
 - 21) Sakai, S., Geffner, E. & Sandow, A. (1971) Caffeine contracture in muscle disrupted transverse tubules. *Am. J. Physiol.* **220**, 712-715
 - 22) Taniguchi, M. & Nagai, T. (1970) Effect of temperature on caffeine induced calcium release from isolated in frog skeletal muscle. *Jap. J. Physiol.* **20**, 61-71
 - 23) Tashiro, Y., Sato, A. & Shinagawa, Y. (1957) Effect of the surface agents and phospholipase A upon the microsomes (the endoplasmic reticulum) (Japanese) *Symposia for the Society of Cellular Chemistry*. No. 6, 121-137 Maruzen Co. LTD.
 - 24) Weber, A. (1968) The mechanism of the action of caffeine on sarcoplasmic reticulum. *J. Gen. Physiol.* **52**, 760-772
 - 25) Weber, A. & Herz, R. (1968) The relationship between caffeine contracture intact muscle and the effect of caffeine on reticulum. *J. Gen. Physiol.* **52**, 750-759

第 41 回 近畿生理学会 談話会

日 時：昭和45年 2月22日

場 所：守口市文園町 関西医科大学新学舎二階第一講堂

幹 事：田代 裕，安原基弘

1. 誘発筋放電と薬物

安原基弘，内藤博江，藤本清一，温 彩齡（関西医大，第二生理）

ウサギの脳幹網様体あるいは視床の電気刺激により前・後肢に誘発される筋放電のうち前肢に認められる tonic type のものは錐体路系の働きと関係があり，前・後肢ともに認められる phasic type のものは錐体外路系の働きに関係があるということについてはすでに報告したところであるが，続いて行なった大脳皮質と海馬刺激の実験では，放電波形の上からは大脳皮質刺激の場合は前肢に tonic type のものが多数例に認められ，海馬刺激の場合は少数例にしか認められないことが明らかとなった。その結果大脳皮質刺激により出現する筋放電は錐体路性の要素の強いものであり，海馬刺激により出現する筋放電は錐体外路性の要素の強いものであるということが出来る。そして薬物作用の上からは diphenylhydantoin のような抗けいれん薬は大脳皮質刺激による筋放電に対して，piperiden のような錐体外路性の疾患に有効な薬物の作用は海馬刺激の筋放電に強い抑制作用を示すことを明らかにしている。ウサギにおいてはヒトの錐体路に相当する皮質脊髄路は前肢のみを支配するといわれるが，上述の筋放電に対する CDP-choline の作用態度からは機能的な意味での錐体路系は後肢をも支配していることが考えられる。次に筋放電を閾値の面から検討した実験においては，いろいろの薬物の作用を覚醒反応に対する作用と共に比較検討しているが，覚醒反応に対して閾値の下降を示す薬物のうち cytochrome C, CDP-choline, ATP などは筋放電の閾値をも下降させるが，amphetamine, centrophenoxin は筋放電の閾値には殆んど作用を示さなかった。脳障害治療薬としては覚醒反応だけでなく，筋放電の閾値をも同時に下降させる薬物がより効果的であろうが，内包を破壊したウサギでの大脳皮質刺激により前・後肢に認められる誘発筋放電を対象とした慢性実験の成績からは，上記閾値の下降を示す薬物のうち cytochrome C と CDP-choline が

control と比較して有効であることが確認された。以上の他，脳幹網様体刺激による急性実験において重炭酸ソーダが覚醒反応と共に筋放電の閾値を下降させることを確かめている。

2. ネコの後根切断後脊髄内に発生する運動軸索からの sprouting について

荒木辰之助，遠藤克昭（京大，医，第一生理）

脊髄後根を切断することによって運動軸索から sprouting が発生するという報告はまだなされていない。われわれは下記の如く，後根切断によって運動によって運動軸索から sprouting が発生することを電気生理学的に明らかにした。

後根を脊髄神経節の中枢側において切断したネコにおいて数ヶ月後に運動ニューロンの細胞内電位を検すると，前根刺激によって数 msec 後に脱分極電位が現われる。この電位は逆行性スパイク電位の過分極相，あるいは Renshaw IPSP の途上において現われることが多く，細胞内 Cl⁻ イオン注入によって逆転せず，また，膜電位を変化させてその平衡電位を検すると 0 mV に近い。以上の結果から，前根刺激によって発生する上記の脱分極電位は EPSP (VR-EPSP) であると結論される。このようなネコにおいて，後根の一部をあらかじめ切り残しておいた場合には，前根刺激によってその後根に後根電位 (VR-DRP) が発生するのが認められ，その潜時および時間経過は VR-EPSP のそれとほぼ一致する。この結果は，後根を切断したネコにおいては，後根の primary afferent に単シナプス連絡を有する interneuron に対して運動軸索からの sprouting が連絡することを示すものと考えられる。後根が一部切り残されている場合において，VR-EPSP が末梢筋枝神経刺激による単シナプス性 EPSP および多シナプス性 EPSP と occlusion を示すこともこれによって説明することができる。以上の VR-EPSP および VR-DRP は前根の単一刺激で 50~60/sec の頻度で反復性に起こることがあり，また，運動ニューロンの群発性の自発性放電を起している場

場合もある。後根切断後に現われる固縮の発生には、以上の如く、運動軸索からの positive feedback による運動ニューロンの hyperactivity がその原因ではないかと考えられる。

3. 脊髄性固縮における運動ニューロンの発火様式

遠藤克昭, 荒木辰之助 (京大, 医, 第一生理)

ネコにおいて、胸部大動脈を一時的にクランプして脊髄に対する血流を一時的に遮断させた場合、あるいは脊髄の半切を行なった場合下肢の固縮が発生するが、そのパターンには若干の相違があり、運動ニューロンの細胞内電位記録によってそれぞれの発火様式の解析を試みた。

貧血性固縮においては、軽度の場合は10~50/sec の比較的規則正しいニューロンの自発性放電がみられるが、少し強度の場合は自発性放電は不規則になり、群発性になる。さらに強度の場合は運動ニューロンのスパイク電位の形は abortive になり頻度は増大して、150/sec に達する。このとき full-sized spike と考えられるものと、IS spike と考えられるものとのほかに、両者の中間の諸種の大きさの spike が発生する。以上の自発性放電は間歇性に起こることが多く、また、pace maker として Renshaw IPSP が関与していると考えられる場合がある。(貧血性固縮の場合 Ia-IPSP はその関係する interneuron が死滅するので必ず消失するが、Renshaw cell は一般に resistant であり Renshaw IPSP は残る場合が多い)。

次に脊髄半切ネコの場合には後根からの sprouting が発生することが認められるが、半切の場合の運動ニューロンの自発性放電は一般に不規則で10~80/sec である。脊髄半切の場合の特徴として、後根からの sprouting によると考えられる EPSP が約20/sec の頻度で自発性に発生するのがみられ、これが自発性放電を trigger しているのではないかと考えられる。

4. 有毛細胞から第8神経へのシナプス伝達

松裏修四, 古河太郎 (大阪市大, 医, 第一生理)

キンギョの第8神経線維のうち細いグループ (S₂ 線維) においても以前に報告した太いグループのもの (S₁ 線維) と同じく、まず EPSP が発生し、それにひき続きスパイク電位のひきおこされ

ることが判明した。EPSP は音強度にしたがいその大きさが graded に変化し、その持続が音周波数により変化する。すなわち 300 Hz の音によりひきおこされる EPSP よりも 150 Hz の音による EPSP の方が幅が広い。(音の各々の波に対応して EPSP が発生する)。記録電極を通じ anoelectrotonus をかけると、その程度がつよくなるとスパイク電位は block されるが、EPSP は逆に高さが増大するので EPSP とスパイクは区別される。S₂ 線維の細胞体から誘導される活動電位には、EPSP とそれにひきつづいておこされるスパイクというタイプのパターンを示すもの以外にいろいろ複雑なものも記録されるのでそれらについても若干考察を加えた。

5. 前庭神経内側核の電気刺激による頸部迷走神経の反応について

池田正一, 久保 哲 (京都府医大, 第二生理)

Motion sickness にみられる症状から考えられるように、前庭神経およびその神経核の活動が、自律神経機能に影響をおよぼすことは古くから知られている。

そこで上丘より吻側の大脳、および小脳を除去した無麻酔非動化ネコを用い、前庭神経内側核を直視下に刺激して同側の頸部迷走神経から反応を記録し、その性質をしらべた。

反応は、潜時約 1.5 msec の initial spike (I. S., 持続 1~2 msec) と、潜時 4~6 msec の late activity (L. A., 持続 5~8 msec) より成る。刺激点が前庭神経内側核の尾側にゆくにしがって、I. S. の振幅は大きくなる。2発刺激による回復性は、I. S. が数 msec, L. A. が 100 msec 以上である。連続刺激 (20~50 Hz) による各反応をみると、I. S. の振幅は殆んど変化しないが、L. A. は著しく影響をうけ、30 Hz, 30発目または 50 Hz, 10発目の反応は完全に消失する。

また thiopental Na の静脈内投与により、I. S. は影響をうけにくい、L. A. は抑制的影響をうける。

これらのことから L. A. は複雑な synaptic route, おそらくは網様体を介した反応であり、これに対し I. S. は比較的直接的な反応であると考えられる。

次に外傷による頸部損傷の場合、前庭-迷走神

経系機能に関連した症状がみられるので、頸部の諸組織に条件刺激(600 Hz, 50発)を与えて、L. A. におよぼす影響をみた。その結果、後頭環椎関節周辺の靭帯を刺激すると L. A. は抑制ないし消失するが、頸部の筋肉の刺激では L. A. には殆んど影響がみられなかった。

6. ラット脳幹の respiratory chemosensitivity について

堀 哲郎 (名大, 医, 第一生理)

Masland ら (1962) はラット脳幹の慢性破壊実験の結果から、area postrema が CO₂ の化学受容に関係があることを示唆した。そこでラット脳幹の CO₂ 化学受容性を調べるため次のような実験を行なった。

Urethane または hexobarbital で麻酔したラット末梢化学受容器を破壊した後、脳幹を露出し、下記の4つのいずれかの方法で呼吸性刺激を与え、IL spirometer または pneumotachograph により呼吸反応を記録した。

刺激方法。1) Bubbling-脳脊髄液中においたスティール・パイプに humidity した CO₂-O₂ ガスを流し先端より bubble して与える。2) 蜘蛛網膜下腔灌流-人工脳脊髄液を 38°C で CO₂-O₂ ガスで平衡させ脳表面においたカニウレを介して灌流する。3) Area postrema の血管灌流-先端 30~50μ のガラスピペットを後下小脳動脈の枝に刺入し、種々の溶液で灌流する。4) Chemode (シリコンゴム膜をスティールパイプの先端に張りつけたもの) を脳実質内に刺入し CO₂ ガスを膜を通して与える。

CO₂ 刺激を上記の方法により背側脳幹に試みた限りでは著明な呼吸反応を惹起する部位は見出されず area postrema も呼吸性化学受容には少くとも一次的には関与していないといえる。一方、CO₂ 刺激を腹側脳幹におよぶように与えると、反応の大きさ、潜時の差こそあれ、分時呼吸量の増加が認められる。反応がえられる部位の局在を確かめると、延髄腹外側で橋との境に近いレベル辺りが最も感度が高く Mitchell らがネコの脳幹で見出した部位にほぼ一致する。

7. ネコの睡眠中の赤核活動におよぼす前庭神経核の影響

佐藤豊彦 (愛知学院大, 歯, 生理)

逆説睡眠中には急速な眼球運動 (REM) の群発を始めとして諸種の phasic な現象の増強が見られるのが特徴である。赤核では、REM に一致して単位放電の群発が見られる。

前庭神経核の N. medialis と N. descendens の両側性破壊は、逆説睡眠中の REM のみならず、錐体路の群発性放電や末梢筋の攣攣を抑制する。

本実験の目的は、前庭神経核破壊が、REM 中に見られる赤核の群発性放電に対してどのような影響を持つかを検索することである。

ネコの赤核に慢性的に電極を留置し、赤核の multiple unit activity を integrator を介して記録した。覚醒時に動物が orienting reaction を示す時には赤核活動は増加した。徐波睡眠に入ると、赤核活動の水準は低下するが、脳波上の紡錘波に一致して活動が増強した。逆説睡眠中には REM の群発に同期して著しい赤核の活動増加が見られた。

前庭神経核の N. medialis と N. descendens の両側性破壊は、逆説睡眠中の REM や筋攣攣のみならず赤核活動の相対増強を消失せしめたが、覚醒時や徐波睡眠中の赤核活動に対しては影響が認められなかった。

赤核の REM 中の活動増強は大脳皮質削除後も残存するとの過去の成績を参考にすれば、REM 中の赤核活動増強は前庭神経核よりの直接入力に依存するといえる。

8. 骨格筋内葉状神経終末の機能と電子顕微鏡像

伊藤文雄 (愛知学院大, 歯, 生理)

脊椎動物骨格筋内には筋紡錘の外に無囊の神経終末が分布して、筋伸長に対して反応していることが判っている (Tasaki ら 1952, Ito ら 1964)。この種の終末は筋の受動的伸長に対して phasic な放電をし、筋紡錘に比して順応が速い。しかし筋の等長性収縮中は筋紡錘の反応と逆位相で、その収縮の頂点に burst 放電をし、収縮高が増す。

この葉状神経終末とその支配神経をカエル縫工筋内で単一分離し、paraffin gap 法でその終末の近くの電位を誘導する。記録された発動器電位の時間経過は筋紡錘のそれと良く似ている。したがってこの種の求心性神経放電の順応が早いのは

発動器電位から求心性インパルスに変換される際に原因していると考えられる。この外、筋紡錘と同様にこの神経終末からも abortive spike が記録される。

以上のように機能的に同定された神経終末をグルタール・アルデファイド固定を経てオスミウム固定し、電子顕微鏡所見を検べた。1本の有髄感覚神経は末端近くで数本から十数本に分枝し、さらにそれらの先端で無髄線維を分枝する。この有髄分枝部ではその全体を2・3層の薄い細胞層(おそらく Schwann 氏細胞)で取り囲んでいる。無髄神経末端部には電子密度の高い小顆粒やミトコンドリアがあり、その周辺を他種の大形の細胞で包围されている。この細胞には大きな核が屢々現われ、ミトコンドリアや pinocytotic vesicle が多数含まれ、その膜には分泌像も認められる。

9. 脳空気栓塞による平坦脳波について

山口雄三, 秦 順一, 吉井直三郎 (阪大, 医, 第二生理)

カイウサギを用い、総頸動脈から空気を注入して脳空気栓塞を生じさせ、それに伴う脳波および行動の変化を観察した。実験は原則として無麻酔・無拘束で行ない、空気注入時のみエーテル麻酔を用いた。ネムブタールおよび塩酸プロカイン投与例についても、あわせて検討した。

1. 空気 (2~3cc) 注入直後より6~8秒続く海馬覚醒波が出現し、ついで急速に平坦脳波に移行する。この移行の時期に、強直性けいれんが起り、5~30秒続くが、脳波にはそれに対応する発作波はみられない。平坦脳波が約10秒~2分持続したあと、海馬シータ波があらわれはじめ、ついで皮質に高振幅デルタ波が出現する。その後デルタ波の減少、速波の出現がみられ、漸次回復して約1週間で殆んど完全に復元する。空気を大量(4cc以上)注入した例では、注入直後より平坦脳波の出現までの経過は上記の場合と同様であるが、その後自発呼吸は停止し、平坦脳波が長期に持続して回復は困難であった。

2. あらかじめネムブタールで中等度に麻酔した例では、空気注入直後より海馬覚醒波が出現するのは1と同様であるが、平坦脳波およびけいれん出現までの潜時が延長し、平坦脳波およびけいれんの持続時間の短縮がみとめられた。ネムブタ

ール深麻酔例では、皮質脳波は脱同期するが海馬シータ波は出現せず、平坦脳波出現までの潜時は著明に延長し、けいれんは出現しなかった。

3. 塩酸プロカインを頸動脈に注入した例(脊髄脳波には殆んど影響しない量)では、平坦脳波出現までの潜時が延長した。

10. ネコの gyrus orbitalis 刺激による舌下神経核細胞の反応

森本俊文, 河村洋二郎 (阪大, 歯, 口腔生理)

脊髄運動神経細胞に見られるシナプス後抑制は大部分 strychnine の投与によって消失する事が知られている。しかし、最近、小脳、海馬、視床、網膜等で strychnine-resistant なシナプス後抑制の存在が認められ、脊髄運動神経細胞においても、網様体刺激によって誘発される抑制は同様の性質をもつ事が報告されている。

本研究はネコの大脳皮質舌運動領 (gyrus orbitalis) 刺激、および舌の一般知覚を司る舌神経の刺激が舌下神経核細胞活動におよぼす影響を分析すると共に、それぞれが舌下神経核細胞群に惹起する抑制の性質を strychnine を投与して比較検討したものである。

実験方法は条件刺激をネコの gyrus orbitalis または舌神経に与え、次いで時間々隔を次第に変えながら試験刺激を舌下神経に与えた。この操作により舌下神経核の逆行性誘発電位が条件刺激を与えなかった場合に比べて如何に変化するかを調べた。舌下神経は茎突舌筋等の舌ひっこめに働く筋群を支配する細胞と頤舌筋等の舌つき出しに働く筋群を支配する細胞とに大別されるので、これら2種の細胞群につき検討した。

結果は、gyrus orbitalis の刺激は舌ひっこめ細胞群に対して促進的に、舌つき出し細胞群に対しては促進-抑制的に作用する事が明らかとなった。後者に見られる抑制効果は strychnine を投与しても消失しなかった。一方、舌神経は舌ひっこめ細胞には促進-抑制的に、舌つき出し細胞群には抑制的に作用する。後者に認められる抑制効果は strychnine 投与によって消失した。以上の事から舌下神経核中の舌つき出し細胞群に認められるシナプス後抑制には strychnine 感受性のものと非感受性のものと2種類の系のある事が考えられる。

11. 旁糸球体顆粒の存在と機能

小寺邦彦, 加藤幹夫 (大阪医大, 第二生理)

腎に由来する昇圧性の物質として renin が証明されて以来, 腎性高血圧との関連を中心に多くの研究がおこなわれてきた. 近年 renin の昇圧作用は直接作用ではなく, renin-angiotensin 系としてその作用を発揮し, 作用物質は angiotensin II という polypeptide であり, それが合成されるにおよんで腎性高血圧との関連よりも副腎皮質への aldosterone 分泌刺激作用が強調されている.

一方 renin 産生の場所が腎の旁糸球体細胞であることが確認され, その顆粒を量的に旁糸球体顆粒化指数 (JGI) で表わせば, 腎の renin 含有量と平行していることを Pitcock ら (1959) が認めた. JGI はホルモン, 循環, 電解質等のバランスの乱れによって著しい影響をうけることが知られている.

そこでわれわれは JGI の変化を実験動物を使って種々の条件下で追跡するため, 今回は純系成熟のマウスとラットを用い Bowie 染色の Pitcock & Hartroft 変法 (1958) で切片を染色観察した. その他にも Wilson 変法, Hartroft 変法等試みて顆粒の染色性ならびに JGI 値, 旁糸球体細胞の分布等をしらべた. その結果顆粒の染色性はマウスの方がよく, JGI 値はマウス 87.2, ラット 12.7 で相当な差がある. 正常状態におけるこの差が何を意味するかは, renin-angiotensin 系の生理作用とも関連して興味ある問題である. さらに旁糸球体細胞の出現している糸球体の全糸球体に対する割合はマウスでは, 40.7%, ラットでは 8.4% で, この差を考えれば, 顆粒の減少を問題にする場合にはマウスが, 増加を取り扱う場合にはラットが, それぞれ有利であることが予想される.

今後われわれはこのような renin 含有量の増減を示す旁糸球体顆粒を JGI を用いて追跡し, その昇圧作用の機能的意味, さらには副腎皮質への aldosterone 分泌刺激作用ならびに体内塩水分代謝との関連を追求検索するものである.

12. 相継ぐ筋労作での制御

久保秀雄 (阪体大, 総合研)

さきに競泳 (1500 m 自由型) のラップ・タイムで, 各タイムが, その平均値から離反しようとする動揺をすくなくする様相がうかがえることを報

告した.

今回の要旨; k 番目のタイムを t_k とし, $t_k/t_{k+1} \equiv r_k$, $t_k/t_0 \equiv r_0$ として, $\ln(r_k - r_0)^2$ を先行後行タイムの揺らぎの指標とする. それは v_k を t_k に対応する速さとする, $r_k - r_0 = (v_{k+1} - v_0)/v_k$ として揺らぎを間接的に示すからである.

$\ln(r_k - r_0)^2$ をタイム順 n_k に対してプロットすると, かなり動揺するが全体として見ると, 一路上昇 (現実系), 下降 (ランダム化系) する傾きを示し, この傾きは一直線に拾象しうる (ligne droite topologique)

$$\ln(r_k - r_0)^2 = a + b \cdot n_k$$

先行タイムと後行タイムとの相互交渉のみを見る今の立場から, 上の直線を r_k でのみ微分する. $\partial \ln(r_k - r_0)^2 = 2/(r_k - r_0) \cdot \partial r_k = b \cdot \partial n_k$ ところで

$$\partial r_k = 1/t_{k+1} (\partial t_k - t_k/t_{k+1} \partial t_{k+1})$$

$b > 0$ (現実系列), $b < 0$ (ランダム化系列) であるから $r_k - r_0 > 0$ のとき $\partial r_k > 0$ (現実), $\partial r_k < 0$ (ランダム化).

したがって

$$\partial t_i > \partial t_{i+1} \text{ (現実)}, \partial t_i < \partial t_{i+1} \text{ (ランダム化)}$$

$$t_{i+1} = t_{j+1} \text{ とすると}$$

$$\partial t_i > \partial t_j, (r_k - r_0) > 0 \text{ の場合}$$

$$r_k - r_0 < 0 \text{ のとき同様に}$$

$$-\partial t_i > -\partial t_j, (r_k - r_0) < 0 \text{ の場合}$$

他方, $r_k - r_0 \geq 0$ では $t_{k+1} \leq t_0$ である. 標本点が平均値 t_0 より下にあるとき, 平均値に接近しようとする傾向は現実系列の方が大きく, 標本点が平均値 t_0 より上にあるとき, 平均値への接近傾向は, これまた現実系列の方が大きい ($-\partial t_i$; 減小しようとする傾向が $-\partial t_j$ より大きい).

以上の推論から

平均値 t_0 に接近しようとする傾き ∂t について

$$|\partial t_{\text{現実}}| > |\partial t_{\text{ランダム化}}|$$

と定式化する.

13. イヌ顎下腺導管部の再吸収機能とその調節

今井雄介, 吉村寿人 (京都府医大, 第一生理)

当教室より唾液の塩分濃度が神経の調節により変化することを報告してきた. この調節のメカニズムを明らかにするために今回の研究を計画した. 唾液は腺底部で等張性に分泌されたものが導管部を通過する際に高張性の再吸収を受けて低調

性となるものと考えられている。したがって導管部での塩分再吸収速度および水分透過性の両者を求め、これらが神経の調節でいかに変るかを調べる必要がある。

唾液分泌は水分分泌速度 V (ml/min·g), 塩分濃度 S (μ M/ml), 原唾液濃度 P (μ M/ml), 導管での塩分再吸収速度 Z (μ M/min·g), および水分再吸収速度 R (ml/min·g) とすれば, 次の式であらわすことができる。

$$SV = (V+R)P - Z \dots\dots\dots(1)$$

今, 浸透圧濃度にかぎり考察を進めると,

$$R = q(Posm - Sosm) \dots\dots\dots(2)$$

(1), (2) より

$$V = \frac{Z}{Posm - Sosm} - qPosm \dots\dots\dots(3)$$

がえられる。 q (ml/min·g·ml/ μ OSM) は水分透過係数である。

(3) 式は唾液分泌速度 V を y 軸に, また唾液と血清の浸透圧濃度差の逆数 $\frac{1}{Posm - Sosm}$ を x 軸にとれば, その直線の勾配と, 截片より, 塩分再吸収速度 Z , および水分透過係数 q が求められることを示している。

分泌刺激である鼓索神経の単独刺激による対照実験, および唾液塩分濃度を相対的に上昇させる血管周囲神経の同時刺激による唾液分泌実験を行ない, 各々塩分再吸収速度および水分透過係数を求めた。その結果, 神経の調節により唾液の塩分濃度が相対的に上昇する時は導管部での塩分再吸収速度の減少 (約50%) と水分透過係数の増大 (約30%) があることが明らかとなった。導管部機能に対する神経の関与が, 直接的であるか間接的であるか明らかでないが, 塩分再吸収のみならず, 水分の透過性にまで変化を与えていることは興味深い。

14. 血液中の抗溶血価の測定法

白木啓三, 吉村寿人 (京都府医大, 第一生理)

従来, 赤血球の脆弱度を測定するには低張性食塩水を用いて, これに対する溶血の割合をもって示す, すなわち血球膜の浸透圧抵抗をもって示されてきた。しかし赤血球の脆弱性というものは単に血球自体の性質のみでなく, これをとりまく環

境すなわち血漿成分の変化に左右される因子がより大であることが判明してきた。血液中には赤血球に作用してこれの脆弱性を増す方向に働く溶血物質と同時に, この物質に対抗する抗溶血物質が存在し, お互にバランスを保って一つの steady state を作っていると考えられる。ここに外から強力な溶血物質を添加することにより, 抗溶血価を titrate すれば血液全体として見た場合に, 非常に合理的な血球の脆弱性測定ができることになる。これには生理的にも血液中に存在し, 非常に強力な溶血作用のある lysolecithin を使用した。原理は一定量 (0.02 ml) の被検血液をとって pH 7.4 の buffered saline (4 容の 0.95% NaCl + 1 容の 1/8 M-Na phosphate buffer) 5.0 ml にて浮遊液を作り, これに一定量の lysolecithin 溶液を添加して, この被検血球の溶血度を turbidimeter にて測定する方法である。溶血度は被検血球の半数が溶血した時間 (half hemolysis time H. H. T.) をもって判定した。この H. H. T. と lysolecithin 量とは次に示される関係式が成立することが判明した。 $y = a \cdot e^{-k \cdot x}$

y : H. H. T. (second), x : lysolecithin 量 (mg). そこで著者は H. H. T. の一定値 (60 second) をとって抗溶血値 (antihemolytic value, A. H. V.) と名付けることにしている。この A. H. V. が高い程血中には lysolecithin に対する抗溶血物質が高いことを示し, 逆の場合には一般に溶血物質が増加して血球の脆弱性が増加していることを示す。ヒト, イヌ, ヤギおよびラットについて A. H. V. を測定してみると各々個々の値を有し, いずれも incubation により値は著しく減少し, また脾臓血もこの値は減少している。

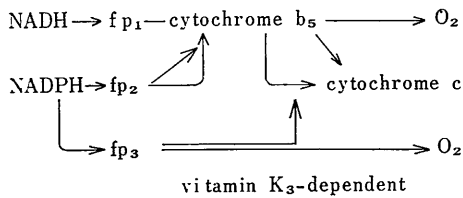
従来は浸透圧抵抗による赤血球の脆弱性の判定に加えて, この方法を取り入れることにより, 種々の生理的あるいは病的状態において, 血液中に産生される溶血性または抗溶血性物質の解明の一手段となりうるであろう。

15. 脳ミクロゾームの電子伝達系と収縮

神野耕太郎, 井上 章 (京大, 医, 第二生理)

すでに脳ミクロゾームにおける cytochrome b_5 の存在が認められ, 次のような電子伝達系が明らかにされている。

その電子伝達系の生理的意義を明らかにする手



がかりとして、電子伝達系と関連した脳ミクロゾームの *configurational* な変化を光散乱の *angular scanning, dissymmetry* から調べた。脳ミクロゾームは *cytochrome c* 共存下で *NAD(P)H* によって収縮し、さらにまた、*vitamin K₃* 共存下では *NADPH* によってのみ収縮する。これはシアン、アンチマイシンA、アマタール、ロテノンのいずれによっても阻害されず、*NEM, pCMB* (10^{-5} M) によってのみ阻害される。このような結果から脳ミクロゾーム小胞は、電子伝達系と共軛して容積が変化し、その *mechanism* には *SH-酵素* の関与が考えられる。

16. ニワトリ紡錘形細胞のセロトニン貯蔵顆粒の電子顕微鏡的観察

井上 章, 反町 勝, 片岡喜由 (京大, 医, 第二生理)

哺乳動物血小板にはセロトニンが結合型として細胞質内の好オスミウム性顆粒に貯蔵され止血に

さいして一定の役割を果たしていることが知られている。一方鳥類等、下等な脊椎動物の有核栓球(紡錘形細胞)の形態についても多くの報告があるにもかかわらず、そのセロトニン顆粒は明らかにされていない。われわれはニワトリ血液中のセロトニン含量が約 $15 \mu\text{g/ml}$ と異常に高いことに注目し、特に血液採集法と紡錘形細胞の分画法に改良を加えた結果、その細胞質中に好オスミウム性の特異な構造を示すセロトニン貯蔵顆粒が存在することを見出した。これは哺乳類血小板の場合に比較して大型であり、且つ表面が粗である点特徴的である。レセルピン処置によりえられる種々の脱顆粒像からその内部構造を詳細に観察した結果、哺乳類血小板のセロトニン顆粒に類似した小型の滑面顆粒の多数が、線維様網目構造の中に凝集して、上記の特異的な形態を示す *multi-granular body* を形成していることがわかった。紡錘形細胞セロトニンはレセルピンによる脱顆粒に平行して遊離され、処置後16時間では正常値の20%以下となる。また、スロンピンによるセロトニン遊離はカルシウムイオンに依存し、オレイン酸による遊離がグルコースにより阻害されない。この2点は紡錘形細胞セロトニンの遊離が哺乳類血小板のセロトニン遊離と異なる機構の上で行なわれることを示唆している。

東京慈恵会脈管学研究所史

東京慈恵会脈管学研究所は、昭和6年10月(1931)、西丸和義が英国Cambridge大学での留学を終えての帰途、William Harvey (1628) が心臓から考えた血液循環の概念を、彼の知らなかった毛細血管研究から考えようとの意図から始まったものである。



西丸和義教授

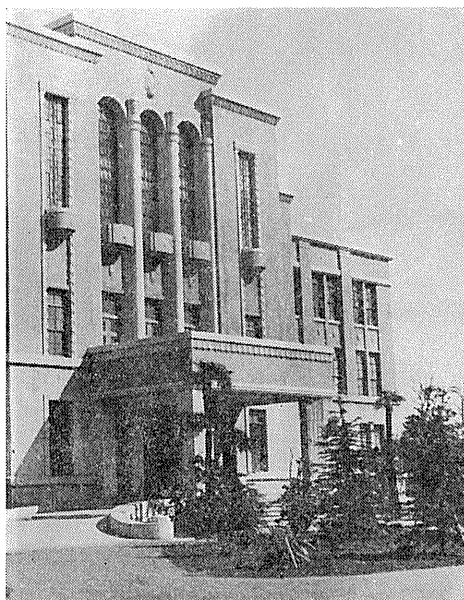


図1. 東京慈恵会医院(昭和7年~20年)三階の一室に脈研が開設された。

西丸和義は昭和7年(1932)、東京慈恵会医科大学の高木喜寛院長の招きにより岡山医科大学から上京、東京都芝区愛宕町2丁目の東京慈恵会医院臨床検査科の一室に一台の顕微鏡と机と椅子をえて実験を発足した。

初めのうちは実験用具の殆どは新宿の夜店で求められた。そのような状態にあったにも拘わらず共同研究者として、間もなく望月清、尾形正治、曾爾太郎、浅見宣三、井上太郎、幸野密二、丹野楯彦、渡辺嘉造伊、原田東岷らが名をつらねた。

同年11月23日、竹田宮昌子内親王殿下の主催された東京慈恵会白菊会の補助によって、血管学研究室が正式に設置されることになった。昭和8年(1933)には最初の論文“毛細血管の透過性に関する研究”が日本生理学会で報告され、これによって毛細血管の研究が緒についた。これらの集成は後に、“毛細脈管の研究”として昭和24年(1949)に日本医学雑誌社から単行本として出版された。

次いで動脈、静脈、血管運動神経の研究に入った。この研究室は、昭和20年(1945)に戦禍をさけて広島県比婆郡敷信村板橋に疎開した。

原爆が広島に投下されるや健康相談所を開設して、約1000名の被爆者の健康管理を行ない、ただ2人の死亡者をみたのみであった。約3カ月後に大体白血球数の正常化をみたので東京に引き返して、研究室の再開を企てた。このことから、白血球の増減の研究で毛細リンパ管の正常観察法を発見するに至り、毛細リンパ管の構造と機能の研究を昭和21年(1946)にはほぼ終えることができた。

その年、東京慈恵会は戦後の変動により一時事業中止のやむなきに至ったので、昭和22年(1947)に清水多栄学長の招きにより研究員一同が広島県立医科大学に就任した。そこで、研究室も呉市梅木町の海岸に移転することになった。

東京慈恵会の徳川家正会長、渋沢敬三副会長

から研究の継続を希望され、精神的関連のもとで一切の研究資料と当座の研究費3万円が寄付された。これをもとにして当時建築制限であった15坪の脈管学研究所を同人の手で昭和24年(1949)に完成することができた。移転後はリンパ管および組織間の研究から比較生理学的の研

究に入り、これらの総括としては、“体液循環の研究”として、昭和27年(1952)医学書院より出版された。

本研究所よりの研究報告は135人の共同研究者によるものが1000余編あり、それは脈管生理学論文集第1巻(1921)～第17巻(1971)として各

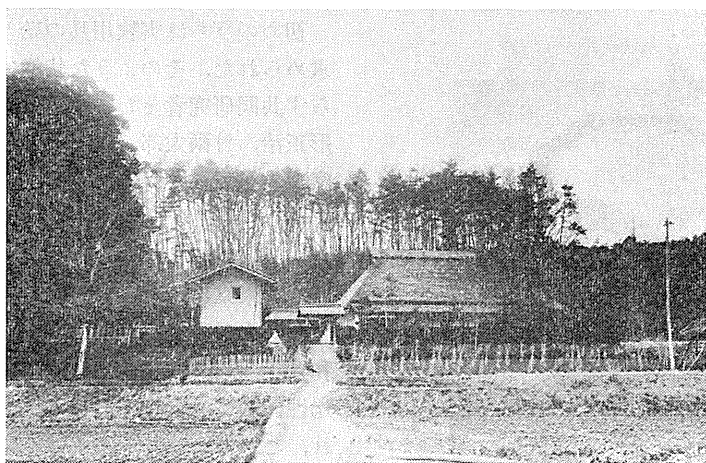


図2. 広島県庄原市郊外の菅田庵。第2次大戦時の脈研の研究室(昭和20～22年)。

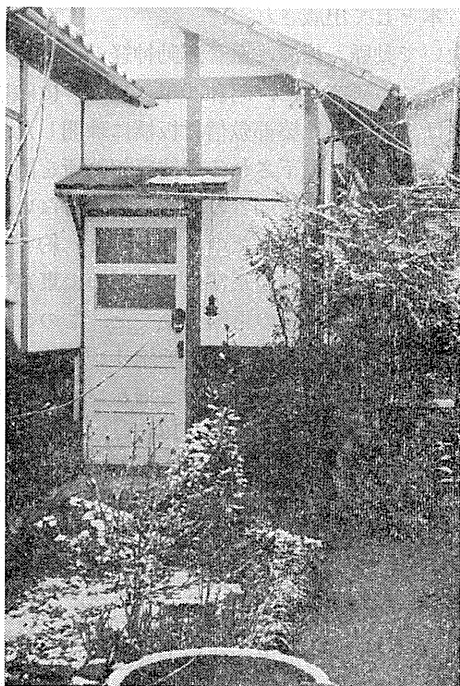


図3. 呉市梅木町の脈研。慈恵会からの最後の研究費をもとにして建設(昭和23年)。



図4. 脈管学展示室(昭和39年)。脈研と先進の業績が展示されている。

主要大学の生理学教室に寄贈保存されている。

この研究の推移は、昭和7年(1932)に毛細血管、昭和10年(1935)に心臓、昭和16年(1941)に静脈、昭和19年(1944)に動脈、昭和22年(1947)にリンパ管の研究が始まって、血管生理学の研究から脈管生理学研究となって行った。さらに昭和23年(1948)に無脊椎動物の比較生理学、昭和25年(1950)に組織間、昭和27年(1952)に体液流の研究が始まり、体液循環の研究となった。これらの研究の論文目次と体液循環の概念が昭和35年(1960)に本研究所より出版された。またこの年に日本脈管学会も創立された。

昭和30年(1955)には東京慈恵会総裁高松宮妃喜久子殿下の御訪問があり、その後の研究経過が報告された。昭和38年(1963)には第16回日本医学会総会(大阪)において、“体液循環概念”が特別講演としてとり上げられ、昭和42年(1967)には日米協力シンポジウム“Microcirculation”が本研究所で行なわれた。なお昭和47年(1972)にはブラジルで開かれることになっている第8回国際脈管学会において“Concept

of Body Fluid Circulation”が45分間の特別講演として招待されている。

なお同人の論文は、1) 比較生理、2) 毛細血管、3) 組織間、4) リンパ管、5) 脈管神経、6) 脈管の収縮性、7) 脾臓の脈管、8) 肺臓の脈管、9) 肝臓の脈管、10) 腎臓の脈管、11) 脳の脈管、12) 体液、13) 末梢循環の機構として総括されている。日本文では広島医学(1959~66)に、英文では Hiroshima J. Medical Sciences (1955~69) に発表され、それぞれ合本されて Basic Study on Angiology として、日本と海外43カ国の250余の医学関係の図書館に寄贈され、またこれらの総括が72頁の単行本“脈管学の基礎”としてアカデミーサービス社から出版された。

現在の研究テーマは、組織間体液流、心臓血管系-リンパ管系相互の神経調節機構などである。

脈管学研究所は呉市梅木町2

(脈研において八田博英記す、

1971年5月1日)

附記：西丸和義博士の脈管学研究所については同博士が私の先輩でもあり交友久しいので記したいことはたくさんある。

西丸さんが慈恵を卒業されたのが1921年であるから丁度50年になる。はじめ生沼曹六教授に生理学を学び、自ら研究し今日に至るまで終始一貫して体液循環の生理学の道を歩き続けた。慈恵の生理一岡山の生理一ロックフェラーでの研究一ケンブリッジの生理一岡山の生理一慈恵の臨床検査室から脈管学研究室の創設一横浜市立医専創立に参与しそこの生理一呉の生理一広島大学の生理から今日に至るまでに西丸さんのいたところは変化した。脈管学の研究に終始した。しかも脈管学研究所が1932年に設けられてからここに40年どこにいてもどこの大学の生理で研究していても脈管学研究所は生理学教室と共に、恰かも車の両輪のようにその研究活動が続けられて今日に至った。

これは西丸さんの初一念を貫いてきたことであって誰にでもできるようなことではない。そして今は呉市の西丸さんのところに研究所がつくられていて

研究所以外の人にも開放されている。もしそこで研究したいという人があれば国の内外を問わず誰でも歓迎される。

広島大学から西丸教授が停年退職の後は銭場教授と入沢教授の二人の弟子が後継者になったことなどは、広島大学の生理学史に記してあるので参照されたい。

西丸さんは労働科学の研究をわがくにではじめての暉峻義等博士と同じようにその若き日の感激をもって研究してきた人である。

私は脈研35年を記念する文集に次の歌のようなものを作って西丸さんに贈り、敬愛のまことをささげた。

眼に見えぬ毛細管をひとすじに究め来りし
和義の君

ハァヴェーの衣鉢をついで究め来し和義君
の新たらしき道

新たらしき道切り拓かんと究め来て体液循環
を見据え給ひぬ

(内山孝一記す、1971年10月10日)



〔会報〕

第6回 J. J. P. 編集委員会議事録

日 時：昭和46年9月18日（土）午後2時～5時

会 場：学会センタービル会議室

出席者：吉村寿人，勝木保次，名取礼二，藤森聞一（出版会
山田，野溝）

1. 前回議事録について：原案どおり確認した。

2. 原稿審査について：原稿審査状況について報告ならびに説明があり，Vol. 21, No. 4, No. 5 掲載論文について確認した。

3. 編集方針等について：1) J. J. P. の投稿原稿の質を上げるよう，配慮方，常任幹事会等をお願いする。

2) Editor の補充について，たとえばホルモン，呼吸関係分野の editor を補充したらどうかとの提案がなされたが，将来 editor の改選の時期にその意を体して考慮することにし，当面は必要に応じて適当な方に editor を臨時にお願いする

ことで処理し，editor の任をこえるものについては，編集委員会で討論することで解決することにした。

3) 速報の掲載についての要請があるが，速報の価値の判断や，速報だけで原著を完成しない傾向に対する対策，および審査方法について問題があるけれども，原則としては否定できないので，次回に真島幹事の出席を仰いで討議することにした。

4. その他：Vol. 21, No. 1 の精算について；東大出版会より報告があり，立替金未払金を相殺して精算することにした。

昭和47年度 三菱財団自然科学研究助成応募要項

1. 助成の趣旨

自然科学の基礎分野における重要かつ独創的な研究を助成して，わが国基礎科学部門の一層の向上，発展を期待するものであります。

このため，本年度は下記の方野を重点的に助成の対象とすることにいたします。しかしその他の分野における研究も勿論選考の対象から除外するものではありません。また，この助成金は研究達成のためにもっとも有効に使用されるようにしたいので，その用途はとくに制限いたしません。

2. 重点対象分野

- 1) クォークなど素粒子の基礎構造に関する実験的研究。
- 2) 強磁界中における物性の研究。
- 3) 鉱物・結晶に関する高温高压実験。
- 4) 励起分子の構造とその反応特異性。
- 5) 化学および物性分野における，新しい原理による新測定方法の研究。

6) 発生，遺伝，免疫などに関する分子生物学的研究。

7) 細胞機能調節におけるオルガネラ膜構造の研究

8) 動物行動の感覚生理学的研究。

9) 体力を決定する基礎的因子に関する生理学的研究。

3. 助成の金額と期間

イ. 金額

総額 約1億円，1件3千万円以内（本年度は15件以内を目標とします）

ロ. 期間

1年を原則とします。研究計画の都合上継続を必要とする場合は，3年計画まで認めることがあります。但し，この場合も毎年改訂計画書にもとづき選考いたします。

4. 応募方法

当財団所定の応募用紙に必要事項をご記入の上，当財団宛ご送付願います。応募用紙はご請求

あり次第お送りいたします。

5. 応募締切

昭和47年5月31日(水)

6. 選考方法

下記委員からなる選考委員会において選考の上
当財団理事会で決定します。

兼重寛九郎(委員長), 藤井 隆, 朝比奈一男,

宮木高明, 蓮沼 宏, 森野米三, 樋口一成, 渡辺
格, 伏見康治, 渡辺武男(敬称略)

7. 申込書送付先

財団法人 三菱財団

〒100 東京都千代田区丸の内2丁目6番2号
丸の内八重洲ビル309号室

電話 東京(03)214局5754番

正 誤 表 (33巻8号)

頁	行	誤	正
546	右下17	castration on the female rat.	castration on it in the female rat.

日本生理学会会費お払込みのお願い

昭和47年度会費 3,000円を何卒お払込み頂きたくお願い致します。前年度会費(昭和46年度
3,000円)未納の方は至急お払い込み下さい(振替用紙は33巻11号に挿入してあります)。

なお, 教室, 研究所ではまとめてお払込み頂くと幸いに存じます。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)。

〒113 東京都文京区本駒込 2-28-21

東 洋 文 庫 内

日本生理学会事務局

振替口座東京 86430

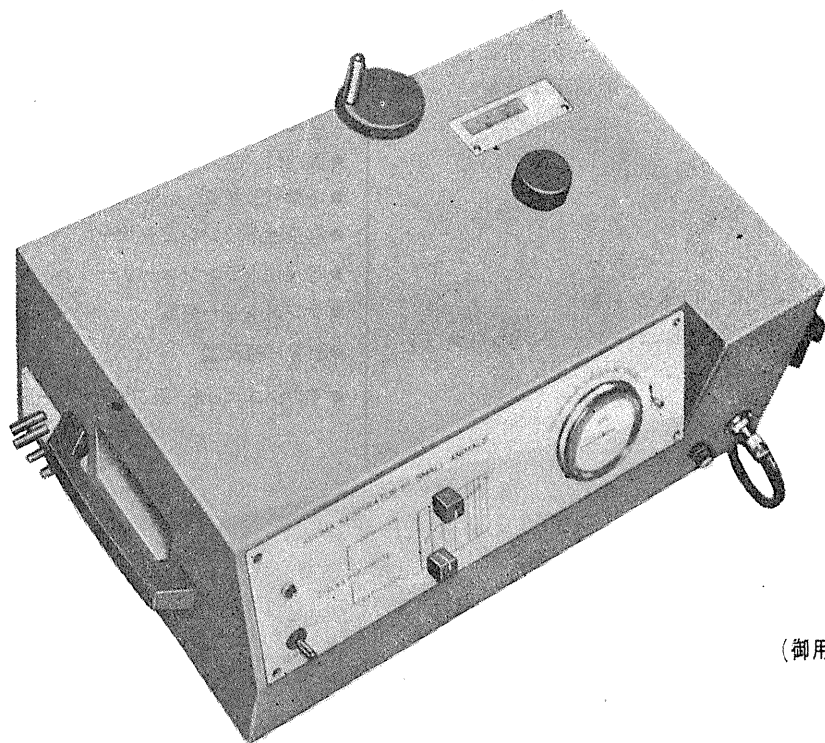
電話 (03) 945-2840

編 集 委 員

真 島 英 信(幹 事)	市 岡 正 道	菊 地 録 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)	

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(A R100) 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 520×330×210^{cm}

重量 22^{kg}

(御用命は全国有名医理化器機店へ)

レスピレーター (アコマ A R100) 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

生理学用研究装置

米国NARCO BIO-SYSTEMS社

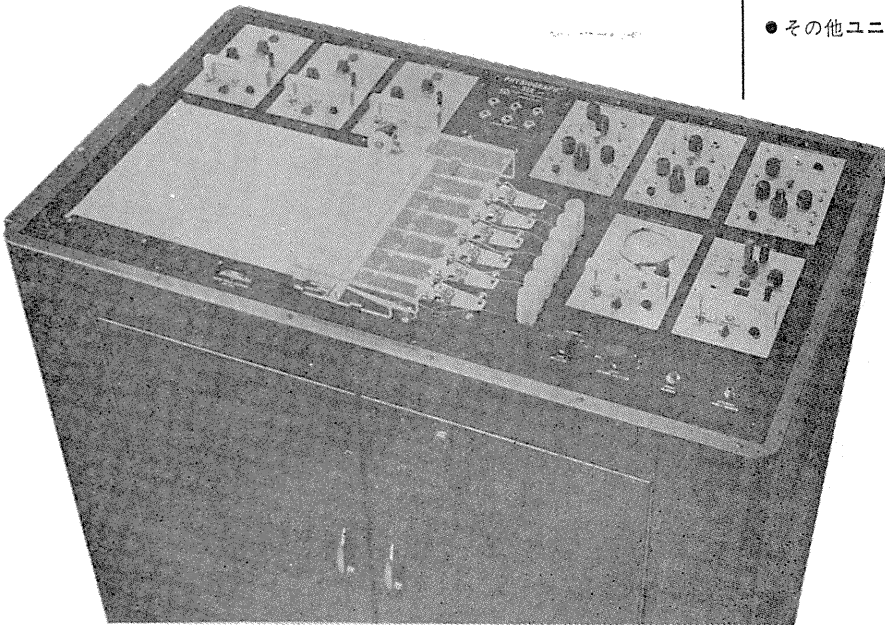
米国NARCO社(旧名E & M Instrument Co.)は、メーカーとして、広く各大学はもとより各研究所において利用されています。本装置類は各機種、ユニットシステムで構成されていますので、研究の必要に応じて選択していただけます。尚、レコーダー、各ユニット、アクセサリを非常に豊富に用意しておりますので総合カタログを御請求下さい。

主要品目

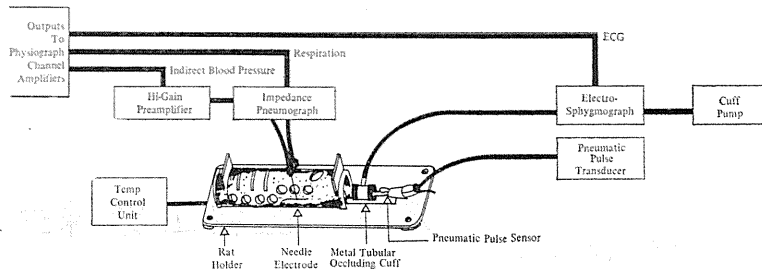
- スモールアニマルスタディユニット
(諸動物の直接的、間接的自動血圧測定器、ECG測定、呼吸測定、体温測定、心拍測定を同時記録)
- 電磁式血流計
- バイオタコメーター (ECG、心拍数測定に)
- 滴数計
- 電撃刺激装置
- 等張性トランジューサー
- 等尺性トランジューサー
- テレメトリー装置
- 自動呼吸装置
- その他ユニット、及アクセサリ関係

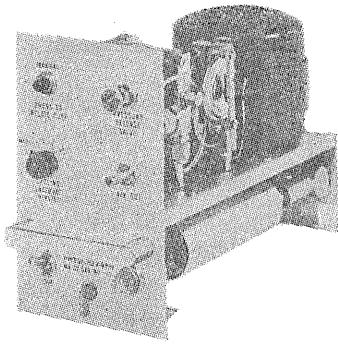
■ 6チャンネルレコーダー (キャビネット型)

(他に4チャンネル、プロジェクター式レコーダー等があります)

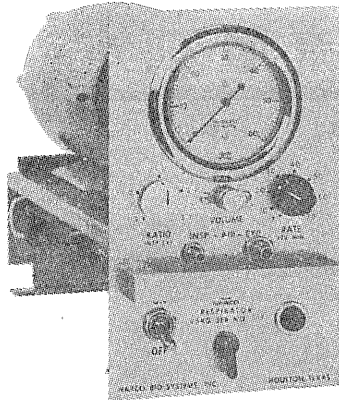


■ スモールアニマルスタディユニットシステム

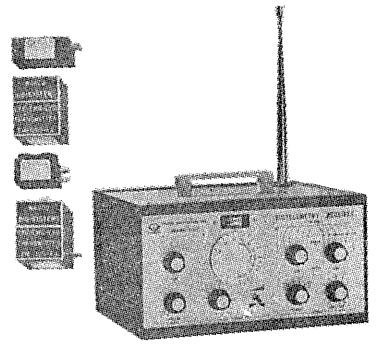




■自動カフポンプ装置
(100mmHg～300mmHg)
●サイクリングタイム：30秒、60秒、120秒～

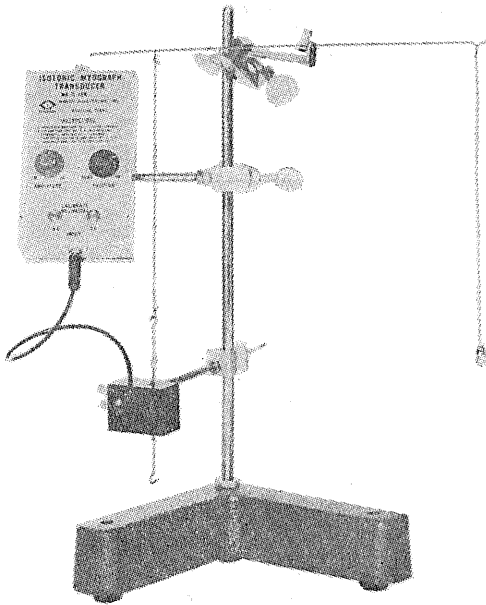


■自動呼吸装置
(V5KG型)
●呼吸相比 (1 : 3 - 3 : 1)
●呼吸回数 (7～70回)
●換気量 45cm³/sec～500cm³/sec

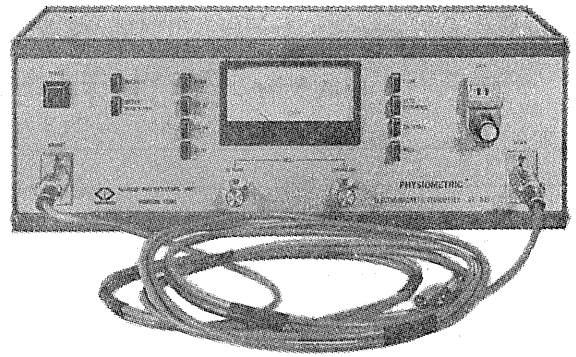


■テレメトリー装置
(FM-1100-7型)
●トランスミッター：重量5.5g, 8g, 18g, 23g
(バッテリーを含む)
●ECG, EMG, EEG, Audio, GSR, Respiration に γ

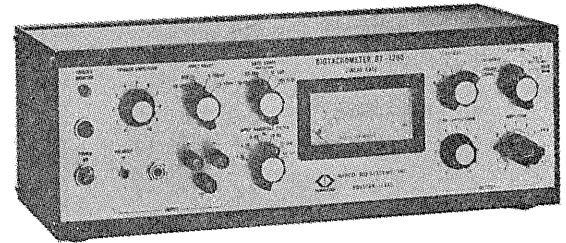
■等尺性トランジューサー



■電磁式血流計



■バイオタコメーター (BT-1200型)



・カタログご希望の方はご一報下さい。

日本総代理店

室町機械株式会社

本社 東京都中央区日本橋室町4-3 〒103 ☎ (03) 241-7191(代表)
☎ (03) 241-2444(直通)
出張所 大阪市北区牛丸町55(東洋ビル新館) 〒530 ☎ (06) 372-1459(代表)
名古屋市中千種区覚王山通り3-16(新今池ビル) 〒464 ☎ (052)741-5079(代表)
広島市中町10-7(松島ビル) 〒730 ☎ (0822)48-1641(代表)

新製品御案内

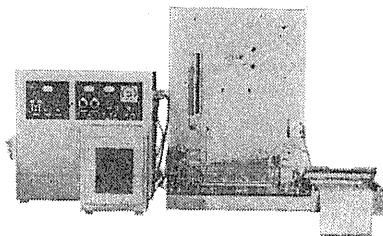
腺分泌液の自動測定装置が開発されました！

体液流量測定装置 SS-NS-1型

唾液腺・膵臓・肝臓より分泌される分泌液の量並に流速等は、動物実験などで通常水平マイクロビューレット法が用いられております。本装置ではその原理を用いて新しい検出方法を採用することによって、完全に自動化することに成功いたしました。同時にデータが自記されますので非常に研究に役立つものと確信いたします。しかも超微量の 0.0003°C の分解能力を有しますので、分泌量の少ない唾液の測定も十分に可能であります。又、現在、唾液腺と膵臓とは、関連があると云われておりますが、この2現象を同時に測定する機種を用いることにより、究明することが容易であります。実例でピロカルピンの投与により、分泌量の増加することが確認されております。

〔装置仕様〕

- ◎測定能力 最小 0.0003°C ～最大御希望に応じます。
- ◎測定温度 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 以内
- ◎測定温度範囲 $10^{\circ}\text{C} \sim 50^{\circ}\text{C}$
- ◎測定精度 1～5%以内
- ◎流速範囲 $0.075^{\circ}\text{C}/10$ 秒以下より、御希望に応じます。より流速の速い装置の製作もできます。
- ◎装置の大きさ 巾 $800 \times$ 高さ $700 \times$ 奥行 400
重量 約 40Kg



仕様書・文献進呈

科学研究用機器



研究・設計・製作

株式会社 柴山科学器械製作所

東京都豊島区南大塚3丁目11番8号 電話 東京(03)987-4151(代)

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

$$\begin{cases} \text{Na } 1\text{mEq}/\mu \times 10^{-2} \\ \text{K } 1\text{mEq}/\mu \times 10^{-2} \end{cases}$$

2. 稀釈操作不要

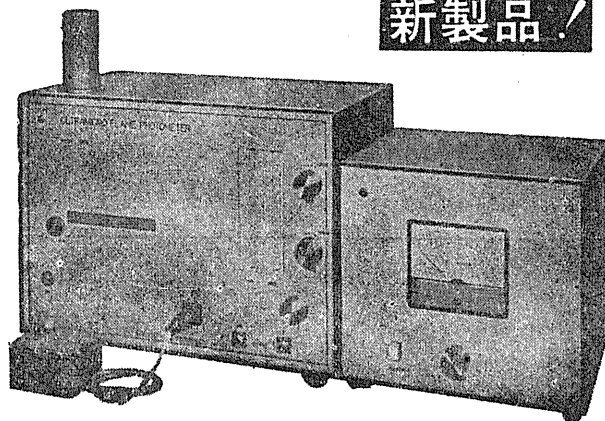
3. Na, K 同時測定

4. 再現性 $\pm 2\%$ 以内

エルマ光学株式会社

本社 東京都千代田区神田鍛冶町2-4 〒.101
電話 (03)256-0911(代表)

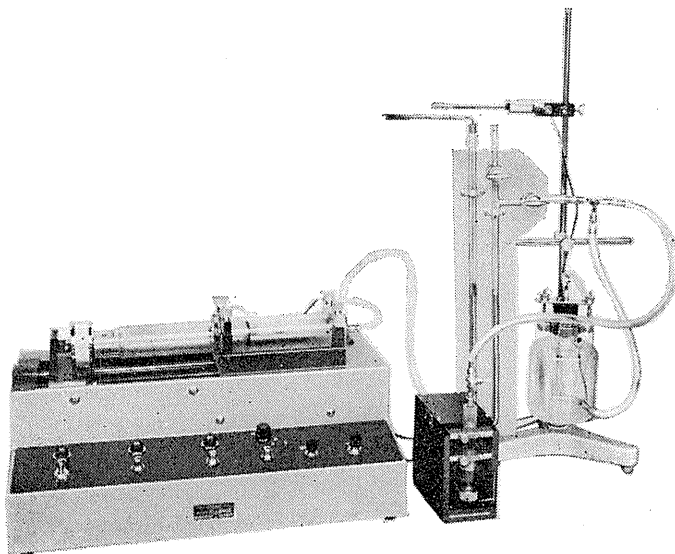
大阪サービスセンター
大阪市北区旅籠町7-1 柏尾ビル内 〒.530
電話 (06)364-7981



HAFFNER法

鎮痛効果測定装置

実中研 医学研究所 御指導

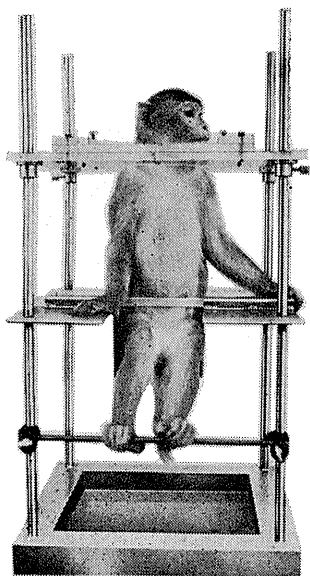


本装置は機械的刺激によるマウスの仮性疼痛反応閾値上昇から薬物の鎮痛効果を測定する装置であります。

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できます。

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)

