

日本

# 生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

34巻 3号 1972

総説

西田 勇, 村上哲英: 組織から抽出される細胞分裂調節物質について……………131

原著

岡本歌子: ヒト血液線溶系における proactivator-activator 系-ヒト血漿より分離した  
fibrinogen, plasminogen および proactivator を使用した合成線維系における研究…147

学会抄録 第16回生理学中部談話会……………156

第20回日本生理科学連合講演会講演要旨……………170

新潟大学医学部生理学教室史……………183

書評 日本動物解剖図説 (高橋 勉)……………195

The anatomical organization of the suprasylvian gyrus of the cat (時実利彦)……………195

Medical primatology 1970 (時実利彦)……………196

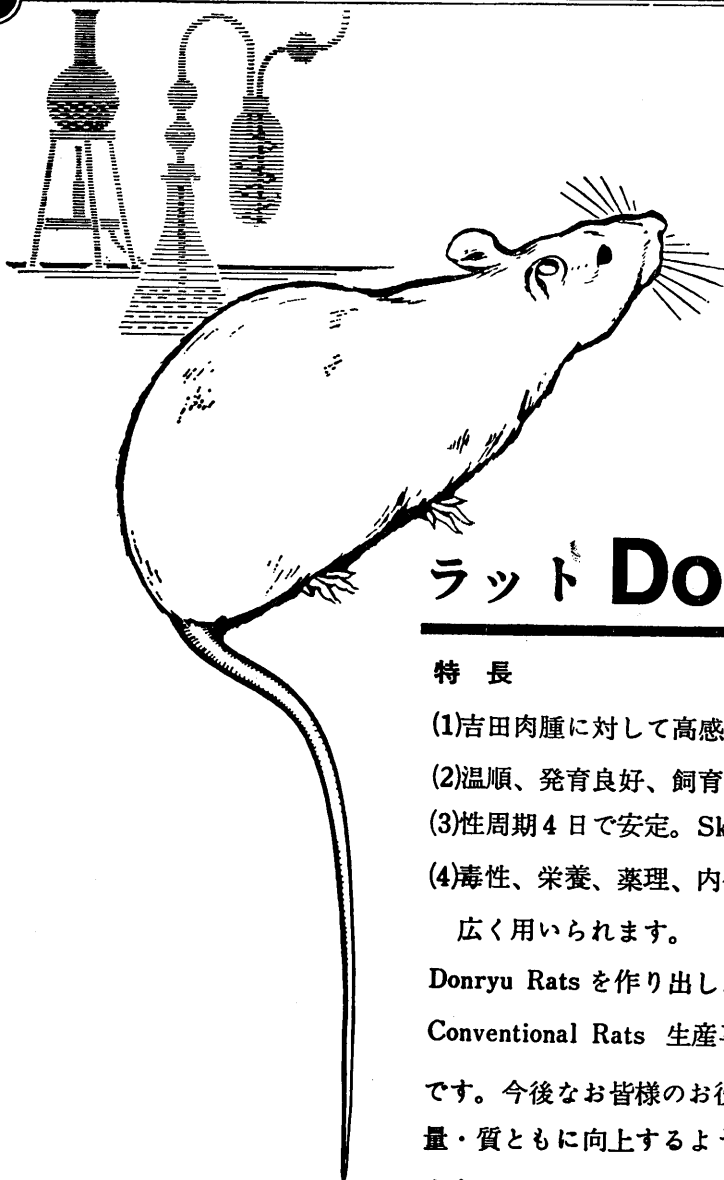
会報 第7回, 第8回 J. J. P. 編集委員会議事録……………196

基礎生理学研究所設立準備委員会, 第3回仮運営委員会……………197

MEDLARS 検査文献資料……………198

日本生理誌  
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



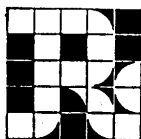
## ラット Donryu

### 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

組織から抽出される細胞分裂調節物質について 612.014.1

西田 勇, 村上 哲 英 (岡山大学医学部第一生理学教室)

Mitosis regulating substances extracted from animal tissues Isamu

NISIDA and Tetuhide MURAKAMI (Department of Physiology, Okayama University Medical School)

I. はじめに

全ての細胞は細胞から生れ, 細胞の分裂がなければ生物は存在しない. したがって, 細胞分裂の機構の解析は, 生理学の中で, 最も基本的な研究課題の一つであるといえる.

細胞は分裂期 (mitotic stage) と休止期 (resting stage) をくり返す細胞周期 (cell cycle) を持っていることは古くから知られている. そして, 分裂形式は無糸分裂 (amitosis) と有糸分裂 (mitosis) とに大別され, 高等動物のほとんどの細胞は, 癌細胞も含めて有糸分裂を経ることも明らかにされている. そして, 有糸分裂は光学顕微鏡で観察されて来た諸々の事柄が電子顕微鏡的に, より詳細に確認され, 細胞は分裂期には中心体の分離, 核膜の消失, 染色体の出現, 星状体および紡錘糸の発達, 染色体の両極への移動, 分割溝の陥入, 分裂装置の消失と核膜の出現によって二つの娘細胞ができ, それぞれの娘細胞は休止期に入り, ある時間を経ると再び分裂期に入ることが明らかとなった. また, 一般には細胞の分裂は核の分裂 (karyokinesis) に続いて分割溝の陥入などの細胞質の分裂 (cytokinesis) がおこるのであるが, この二つの現象は細胞によっては連続しておこらない場合もあり, それぞれ独立した現象として研究される場合がある.

細胞が二つの娘細胞に分裂するためには, 分裂前に細胞内物質の倍化が行なわれていなければならない. この細胞内物質の合成が, 細胞周期のどの時期に行なわれるかは, 最近のアイソトープを用いた生化学的分析技術の進歩によって, 次第に明らかにされて来た. いま, DNA

の複製を基準にして細胞周期を図示すると, 図1のように表わされる. 培養細胞のような, 増殖系の細胞については, この周期はほぼ一定である.

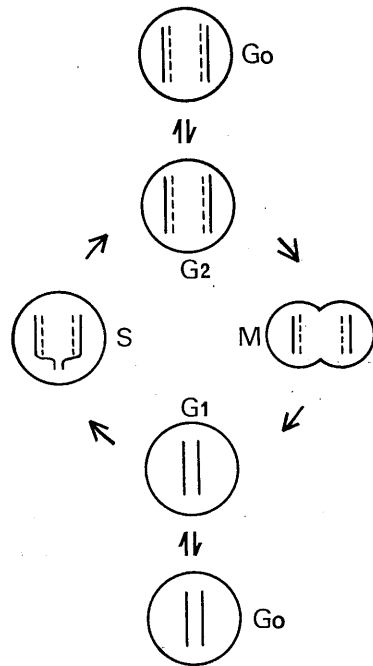


図1. DNA合成を基にして細胞周期を模型的に示す. M—分裂期. G<sub>1</sub>—分裂期のあとの静止期. S—合成期. G<sub>2</sub>—DNA合成期のあとの静止期. G<sub>0</sub>—非増殖性細胞期がG<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>のそれぞれの期に存在することを示す. 土井田 (1969)<sup>7)</sup>より模写.

生体内には, 生殖細胞や造血組織のように常に増殖している組織. また, 正常では分裂像のない組織でも, 部分的切除などの刺激を与えると増殖期に入る肝臓や腎臓のような再生能を持った組織, あるいは, 骨格筋や神経細胞のように, 成長はするが再生能を全く失っている組織がある. したがって, 増殖系以外の細胞は再生

能を持った組織細胞も含めて、 $G_1$ 期、 $G_2$ 期あるいは $G_0$ 期 (no growth phase) のいずれかで細胞周期を停止していることになる。

しかし、生体内で再生能を失う組織細胞も発生期 (胎児)、幼若期さらには成体においても、その組織を組織培養し、適当な培養基を与えれば増殖系の細胞周期に移すことも可能である。また、ラットの肝臓の65~70%を切除すると、残りの肝臓のDNA合成は急激に高まり、ほぼ24時間後には最高に達し、分裂指数も48時間~72時間後には最高に達する。肝臓重量も約1ヶ月後には乾燥重量も正常値にまで再生する。そして、この再生肝についての実験で、肝切除後、正常肝のホモヂネートを腹腔内に注射すると再生肝の分裂指数は著しく抑制される。しかし、再生肝のホモヂネートにはこのような作用はない。また、皮膚や角膜上皮層に損傷を与えると、その周辺の細胞は一過的に分裂を開始し、やがて分裂像はなくなり、正常組織では元以上に増殖することはない。これらの事は生体内において、組織細胞の分裂に関して何等かの調節機構が存在し、それと同時に細胞分裂の調節物質が存在していることを物語っている。そして、盛んに増殖している組織からは分裂促進物質が、これに反して再生能のないような組織からは、分裂抑制物質がそれぞれ抽出できるのでなかろうかと考えられるようになった。

細胞分裂促進物質は損傷の治癒や、組織培養の培養液に利用できる可能性がある。また、細胞分裂抑制物質は制癌剤として開発することも可能である。現在、抗生物質のほとんど全てが、正常細胞の分裂をも抑制する弊害を持っているため、特定な組織の細胞分裂のみを抑制させる目的で、生活組織から制癌物質あるいは抗ウイルス性物質の抽出と云う試みが近年特に注目を浴びる分野となって来た。

## II. 細胞分裂調節作用の検定方法

細胞分裂の調節作用を検定する方法としては、その目的に応じた細胞を選ばなくてはならない。一般的な基本的条件としては、(A) 細

胞周期の短い細胞、すなわち盛んに分裂をくり返す細胞が必須条件となる。しかも、有糸分裂を行ない、不等分裂や異状分裂を起こさない細胞が望ましい。(B) 年間を通じて、簡単に多量に入手できる細胞で、培養条件等は簡単な程望ましい。(C) 細胞が大きく、細胞内の構造、例えば分裂装置等が良く観察できる細胞が望ましい。(D) 細胞の性質や特性について、良く知られた細胞が望ましい。

### A. ウニ受精卵を用いての実験

これらの条件を満足させる細胞として、われわれはまずウニの受精卵を選んだ。岡山大学には理学部附属臨海実験所があり、これを利用すると、1月~3月バフンウニ、5月~6月ムラサキウニ、7月~9月サンショオウニ、10月~12月アカウニを使用することができる。周知のように、ウニの未受精卵に精子を加精すると約1分以内に受精が完了する。それは受精膜が隆起することによって確かめられる。受精後5分位して何%の受精率かを調べれば良いわけである。生化学的分析に大量の卵細胞を必要とする場合でも受精率が95%以下の材料は用いない。排卵は電気刺激法による方法が最も優れているが、大量に採卵する場合は体腔内に0.5 M KClを少量注入して排卵させ、濃縮精子 (dry sperm) として保存して置けば、数時間は使用可能で使用の際適当量を海水で稀釈して用いれば良い。ウニの受精卵を用いての実験の優れた利点は、一定の温度条件下では、同時に受精させた受精卵は完全な同期分裂 (synchronous division) をすることである。さらに、ウニ卵は種々の薬品に対して敏感であり、分裂調節物質を作用させた実験群の分裂細胞数・時間曲線を描けば、その物質が分裂に対して促進的に働いたか、あるいは抑制作用を持っていたかを簡単に判断することができる。今その1例を図2に示す。Aはウニの脳から Pernow (1953)<sup>38)</sup>の方法にしたがって抽出精製した生物学的活性ポリペプチドの一つである substance P のサンショオウニ卵の初期分裂におよぼす影響を

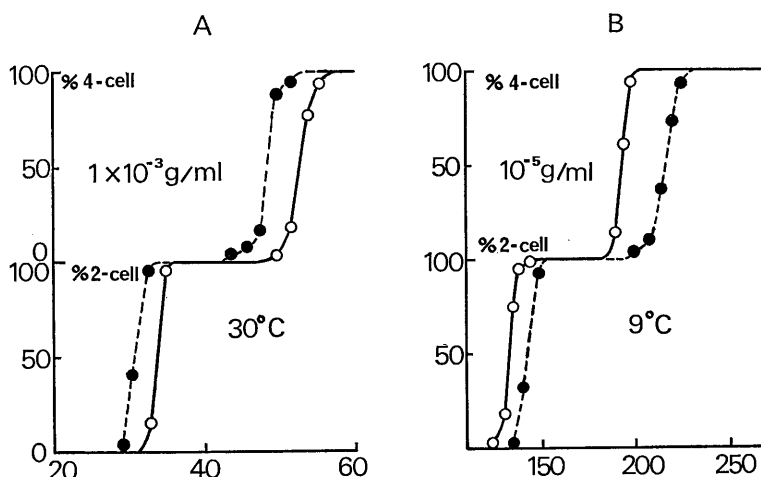


図2. (A) サンショウウニ受精卵の第1, 第2分裂を示す。—○— 第1分裂は加精後31分から35分間に, また, 第2分裂は同じく50分から56分間に全て完了することを示す。もし, 恒温槽の温度を20°Cに保つと, 第1分裂は72分から始まり, 第2分裂は119分から始まる。…●…は substance P を  $1 \times 10^{-3}$  g/ml の濃度で受精前10分から作用させて加精した場合を示す。すなわち分裂開始時間が早まり, 分裂促進作用がみられる。(B) バフンウニの受精卵の第1, 第2分裂を示す。ウシの角膜から抽出した cornin 分画を DEAE-セルロースカラムで細画分し, その fraction II を  $10^{-5}$  g/ml の濃度で受精前10分から作用させて加精すると, 分裂開始時間の遅延が現われることを示す。—○— 正常分裂。…●… 実験例。縦軸: 第1, 第2分裂において, 分裂を完了した細胞の%。横軸: 受精後の時間(分)。

示したもので, substance P は分裂促進作用を持っていることを示している。Bはウシの角膜から抽出したコルニン(後述)を DEAE-セルロースカラムで分画し, その fraction II のバフンウニ卵の初期分裂におよぼす影響を示したものである。この分画は分裂抑制作用があることを示している。このようにして, われわれは種々な組織から, アルコール分画などで分裂周期に関係のある物質を選び出し, その精製法を検討したり, また, 各種のアミノ酸, ヌクレオチド, ヌクレオチドや数種の抗生物質等の細胞分裂におよぼす影響を調べて来た。また, 位相差顕微鏡—16 mm 映画撮影法により, 映画にして観察すると細胞内顆粒の運動や分裂装置の形成様式, 分割溝の陥入, さらに精子の運動におよぼす影響等も詳細に動的に調べることが可能である。また, ウニ卵は変態速度も早いので, 受精24時間後あるいは36時間後には奇形形成等の screening にも利用できる。また, 分裂調節作用の機構の解析に, 核酸合成, 蛋白合成等の分析にも多量に材料をうる事が可能な

ので便利である。普通ウニ卵は海水や人工海水で飼育されるが, 物質合成等の実験に際しては, 海水を  $0.45 \mu$  の millipore filter で濾過したり, autoclave した海水を用いなければならない。もともと, ウニ卵は無機塩類溶液中でも発生が進行するので, いわゆる metabolic pool が多く, したがって, 外から前駆物質を加えてもあまり利用されないのではないかと考えられていた。しかしアイソトープのとり込み, 例えば  $^{32}\text{P}$ i や,  $^3\text{H}$ -thymidine,  $^{14}\text{C}$ -uridine 等を取り込ませて見ると, 未受精卵ではとり込みは少ないが, 受精直後から急激に利用されていることが判った。ただ蛋白合成の活性は哺乳動物の臓器や培養細胞に比べて著しく低い。この事は, ウニ卵の分裂においては, 分裂装置を形成する蛋白は新たに合成されるものは少く, 細胞内に存在していた蛋白を分裂装置に再構成したり, 瓦解させたりしているのではないかと考えられる。

次にウニ卵を用いての実験結果について大きな疑問点として取り上げられる事柄は, 1) 広

く普遍性を持っているかどうか。例えば、ある物質がウニ卵の分裂に抑制作用を示した場合、これが、哺乳動物の培養細胞や、造血組織や精子形成のための細胞分裂に対しても同じ作用を示すか否か、また、その濃度との関係はどうか。2) ウニ卵の初期分裂は正常細胞の分裂のような態度をとるのか、あるいは無限に増殖する癌細胞のような細胞なのか、例えば、制癌物質の screening をする場合、正常細胞の分裂には何等影響なく、癌細胞の分裂のみを特異的に抑制する作用を示す物質が理想的であるので、ウニ卵の分裂についての結果はどちらに取扱ったら良いのか、の二つである。1) の問題について、The Merck Index (1968)<sup>40)</sup>に記載されている抗生物質や、分裂阻害物質や呼吸阻害剤等のマウスに対する LD<sub>50</sub> の濃度と、完全にウニ卵の分裂を抑制する濃度とはほぼ一致し、大体  $10^{-4}$ ~ $10^{-5}$  M の濃度である。しかし、第2図に示したような分裂細胞数-時間曲線で現わすと、強力な阻害剤でも  $10^{-7}$  g/ml 以下の濃度においては、ウニ卵に関しては急に効果を示さなくなる。培養細胞、造血組織、精子形成等に対しての分裂阻害剤はわれわれの検査した範囲内においては全て、ウニ卵の分裂に対しても分裂阻害作用、分裂時間の遅延を示している。結論として、ウニ卵でえられた分裂抑制効果は、哺乳類の分裂抑制に関しても普遍性を持っていると考えられる。2) の疑問に関しては現在のところ、まだ積極的な答えは与えられない。われわれの調べた数種の制癌剤はウニ卵の分裂を著しく抑制する。しかし、これらの制癌剤は正常の培養細胞や、正常組織の分裂も同様に抑制する。後述するように、組織から抽出した細胞分裂抑制物質のあるものは培養された正常細胞 (diploid 細胞) には1%の濃度においても全く影響がないのに、ウニ卵や SV40 ウィルスの DNA で発癌させた培養細胞には著しい分裂抑制作用を示す。また、他の組織から抽出した物質は、0.1%の濃度では培養した肝細胞やウニ卵に対しては分裂阻害として作用するのに、DAB で発癌させた肝細胞の培養細胞の分裂にはほと

んど影響をおよぼさない。また、このような物質をウニ卵の分裂は完全に阻害するような濃度で、連日マウスの腹腔内に注射しても、マウスの受精能には全く変化がないことから、精子形成、あるいは卵子の成熟や受精後の発生には影響をおよぼしていないと考えられる成績もある。結局、細胞の種類によって正常細胞でもウニ卵と類似した感受性を持った細胞と、癌細胞によってはウニ卵と異った感受性を持った細胞があることがわかる。

#### B. 培養細胞を用いての実験

次に細胞分裂の研究に広く使用されている材料としては、種々の培養細胞があげられる。細胞周期が短かく、培養瓶のガラス壁に一層に増殖する細胞、suspension culture も可能な細胞、さらに thymidine block 等で同期的分裂をする細胞、細胞の腫瘍性の有無の明確な細胞等研究目的によって、条件を満たす細胞系を選ばなければならない。

われわれが使用して来た、あるいは使用している細胞は、ヒトの2ヶ月分の全胎児から分離増殖した線維芽様細胞、ヒトの子宮頸ガンから分離した HeLa 細胞、これらの細胞は腫瘍性があるかないかは未だ調べられていない。腫瘍性の無いといわれているいわゆる正常細胞としては、正常サルの腎から分離した上皮様細胞である Vero 細胞。ハムスターの胎児の肺から分離した線維芽様細胞である Don 細胞。ハムスターの全胎児から分離した diploid の線維芽様細胞、正常マウスの皮下組織から分離した線維芽様細胞である L 細胞、ニワトリの胚から分離する線維芽様細胞の初代細胞、腫瘍性は未だ不明だがマウスの胎児から分離された線維芽様細胞で広く使用されている 3T3 細胞、そして、腫瘍性を持っている細胞としては、ラットの新生児の正常肝から分離され、長い期間試験管内で継代培養しているうちに自然発癌したといわれている上皮様、線維芽様細胞の混合している RLN-10 細胞、ラットに DAB を与えて肝ガンを発生させ、それを培養分離した線維芽様細胞である C-83T、および C-84BT 細胞。新生児

のハムスターの頭部皮下に SV-40 ウィルスの DNA を注射することによって発ガンさせることに成功した肉腫を、さらに組織培養した線維芽様細胞である NA-FS 細胞、マウスの Ehrlich 腹水癌細胞を試験管内培養に成功した紡錘形細胞である JTC-11 細胞等である。試験管内で長期間継代培養していると自然発癌する場合もあり、また逆に細胞を長く培養していると、動物に移殖ができなくなる例もあり、登録されている腫瘍性の無いといわれていた細胞系も現在では不明あるいは未検査と表現した方が良いのかも知れないものもある。

さて、これらの細胞を用いて、被検物質の細胞分裂に対する影響を調べるに当っては、その細胞が対数的な増殖期にある時期を選ぶわけである。そして、新しい培養液と交換する時、試薬を一定濃度加え48時間後あるいは72時間後に、細胞数(核数)を計数し、その増殖曲線を描いて検討する。または、固定染色後、分裂細胞の数を分裂細胞指数(mitotic index)として表わす。細胞数として表わす場合に問題になるのは、核分裂のみが経過して、細胞質の分裂が進行しない細胞、すなわち、多核細胞が現われた場合には、細胞数が実際よりは多く計算されるので、必ず、染色標本で、多核細胞の有無を調べる必要がある。細胞質の分裂のみを特異的に抑制する作用を持つ物質が存在するかも知れないからである。また、mitotic index から分裂抑制効果を調べる場合に問題になるのは、作用させた物質が分裂期において、分裂装置の形成を阻害した場合には、分裂前期あるいは分裂中期で細胞周期を中止させているわけであり、分裂溝の陥入を阻害して居れば分裂後期の細胞が多くなるはずである。これらのことから、分裂中の細胞を数え、mitotic index を出すと、その値は当然高くなり、一見分裂を促進していると誤認する恐れがあるわけである。例えば colchicine や colcemid は現在では周知のように、紡錘糸や星状糸の線維状構造を破壊し、分裂中期で細胞周期の進行を阻止するため、細胞数の増加はないが、作用させている時間中も

G<sub>1</sub>期、S期、G<sub>2</sub>期は回転し、分裂中期の細胞のみが増えるわけである。その昔、分裂中期の細胞が増加していたため、分裂促進作用を持つ物質と考えられた時代もあった。したがって、必ず細胞数の増殖曲線も求めなければならない。

さて、培養細胞でも同調培養が可能となれば細胞分裂調節物質の検定や、作用機序に関する研究にも飛躍的な発展が期待される。同調培養法に関しては多くの方法が発表され、また、されつつあるが、以下それらの方法の大略を述べてみたい。その方法は、大別して物理的処理、化学的処理および生物学的処理の三つに大別できる。

物理的処理の代表的な方法としては、無菌的に培養された原生動物の Tetrahymena を用いた実験では、約90%に近い同期分裂を起こすことが可能である。この原虫の一系統では26°Cが増殖の適温であり、この温度で対数的に増殖している状態で、32°Cの熱処理を30分間続ける、32°Cの下では核酸や蛋白の合成は、わずかではあるが進行しているが、細胞は分裂しない。再び26°C30分、32°C30分間の順に処理を続け、計8回の熱処理の後、適温の26°Cで培養を続けると、最後の熱処理後80分で85~90%の高率で同期分裂をさすことができる。しかし、原生動物は無糸分裂を行なうので分裂装置形成の形態学的な追跡ができない。

Zeuthen (1964)<sup>49)</sup>、Cameron & Padilla (1966)<sup>2)</sup>、Levine (1963)<sup>24)</sup>、Harris (1963)<sup>13)</sup>、や Padilla 等 (1969)<sup>37)</sup> 等の報告によると細胞周期の同一期にある細胞は、ほぼ一定の大きさを保っているため、それを濾紙によって分別する。または、同一期の細胞は比重がほぼ一定なので蔗糖やデキストランの濃度勾配を作り遠心力を利用して分別することが可能であるという。あるいは、培養細胞はガラス面に附着して増殖して行き、分裂期に入ると、細胞はガラス壁の一部に附着させて球形となっているので振蕩とか攪拌によってまたは、パイペットで強くパイペッチングして細胞を遊離させて集める方法。Tetrahymena の場合に用いられた高温処理の逆で、哺乳動物の培養細胞の場合は4°Cに一定時間保った後適

温に戻す方法。紫外線、X-ray や放射線は  $G_2$  期の進行を阻害するので、適当量を細胞に照射し、他の期の細胞を  $G_2$  期まで進行させる方法等がある。

一方、化学的な処理としては、対数的に増殖しつつある細胞に、最終濃度が  $10^{-6}M$  amethopterin または  $10^{-6}M$  5-fluoro-2-deoxyuridine,  $5 \times 10^{-6}M$  adenosine,  $10^{-4}M$  glycine と serine を加えて培養を続ける。この間には DNA 合成はほとんど80%近く阻害されておるが、16時間後にこれらを  $10^{-5}M$  thymidine と置換することにより再び DNA 合成が起こり、続いて  $G_2$  となり次の分裂期は同調する。次は現在最も広く用いられている excess thymidine 法がある。対数的に増殖している細胞に最終濃度が  $2 \sim 3mM$  になるように thymidine を加え24時間後に正常培養液と交換、そして15時間後に再び  $2 \sim 3mM$  の thymidine を含む培養液で24時間処理、そして再び正常培養液にもどした。結果は80~90%の同調率であったという。このように thymidine は DNA 合成の必須要素でありながら、過剰の thymidine を加えることによって DNA 合成の阻害が現われ、したがって、細胞周期は S 期で阻止されている。S 期以外の周期にあった細胞は細胞周期は回転して次の S 期で止まることになる。同じく、thymidine の代りに deoxyguanosine を加えた例もある。この他 DNA 合成の阻害剤である hydroxyurea は、RNA 合成や蛋白合成には何等の作用もないことが発見され、 $1mM \sim 2.5mM/ml$  の濃度で10時間処理し、後正常培養液で洗い、同調培養に良好の結果をえている報告もある。また、一方分裂阻害剤で処理する場合もある。これは M 期で細胞周期を阻害する物質で処理するわけで、 $0.06 \mu g/ml$  の colcemide を用いれば分裂期の細胞に出現している星状体や紡錘糸が破壊され、分裂は中期で止まる。Colcemide は colchicine と異なり、洗い去ると、その細胞は再び細胞周期を進行させることができる。そこで1.5~2時間処理して後パイペッチング法等で中期の細胞を集めることができる。問題の同調は第1

回のみで第2、第3の同調分裂がないことと、長時間作用させて、正常培養液にもどすと、多相分裂（1細胞から2細胞になるのではなく、直接3細胞、4細胞となる）が生じ易くなることである。また、星状体や紡錘糸を崩壊して、細胞周期をM期で阻害し、同調を起こさせる物質としてアルカロイドの一種である vinblastine が用いられた例もある。ごく最近、培養液から isoleucine を除くと細胞周期は  $G_1$  で休止する。そして新たに isoleucine と glutamine を加えると細胞はS期、 $G_2$  期を経て同調分裂を行なうことが発見され、DNA 合成やM期の誘発にこの二つのアミノ酸が関与することが明らかとなった。今後の発展が期待される分野である。

次に生物学的な方法として、細胞を培養瓶で培養すると、やがて細胞はガラスの表面を覆うようになり (full sheet), 細胞周期は  $G_1$  で停止している。このとき、古い培養液を捨て、新しい培養液と交換すると、ほとんどの細胞がS期に入り、続いて同調してM期に入るといった報告もある。

以上述べた方法は細胞系 (cell strain) によってその効果は異なる。一長一短で、今後の開発の待たれる分野である。そして、この同調分裂が可能となれば、細胞分裂調節物質の検定や作用機序に関する研究にも飛躍的な発展が期待されるわけである。我国においても、生理学関係では徳島大、第一生理の岡教授の研究室から、色々の新しい方法が発表されつつある。

### C. 動物を用いての実験

次の検定法として、実験動物を用いる場合がある。われわれの教室で行なっている方法を列記すると、正常細胞の増殖としては、マウスおよびラットの再生肝についての実験で肝切除後12~24時間毎に再生肝を固定し、組織標本を作り、100,000 ケの肝細胞中の分裂細胞数を測定する方法で、肝切除後48~72時間に分裂指数の最大の山がある。したがって、肝切除を行ない12時間後に試料を腹腔内あるいは静脈内注射を行ない、分裂指数におよぼす影響を調べた。また、体細胞の成熟と分裂に関しては、マウスの

新生児に試料の一定量を連続10日間腹腔に注射し、生後3週間して雌雄を隔離し、1ヶ月後に同居させ、同居させてから分娩するまでの日数や新生児の匹数を比較する。また、生殖細胞の成熟や分裂に関しては、雌雄を別居させて5日間一定量を腹腔内に注射して、同居させてから分娩するまでの日数や新生児の匹数を比較すると同時に、新生児の奇形の有無を調べた。また、組織標本を作り、生殖巣の像を比較した。また、造血能におよぼす影響を調べる等である。もし、臨床的に応用する場合には Cancer Chemotherapy National Service Center (1964)<sup>3)</sup>が毒性テストのための一応の規準を作っているの、これらを参考にした方が良いと思われる。

そして、さらに実験動物に移殖可能な腫瘍細胞を選び、その増殖におよぼす影響を調べる。一般に外国では固形型の腫瘍を形成する細胞を選び、我が国においては腹水型の細胞を用いている場合が多い。いずれにしても移殖率100%の細胞であることが望ましい。数種の濃度の試液を作り、移殖した細胞の増殖におよぼす影響を調べるには大別して三つに分けられる。1) 細胞移殖前に実験動物に試料を注射し、移殖率、あるいは移殖してからの生存日数におよぼす影響を調べる。2) 移殖前に細胞と試料を試験管内で37°Cで30分 incubate の後、動物に移殖、移殖率および移殖後の生存日数を調べる。3) 細胞を動物に移殖して後48時間～72時間後から試料の投与を始める。これは細胞の移殖後、その増殖に一定の lag phase があるためである。そして、動物の体重の変化あるいは固形型の腫瘍であればその長径と短径の成長度および生存日数を調べる。

普通よく用いられている細胞は、マウスを用いる場合、ddN系マウスに Sarcoma 180細胞、Ehrlich 細胞、あるいは JTC-11 細胞、(腹水型および皮下腫瘍型)の移殖、C<sub>3</sub>H系マウスを用いて Hepatoma 129 (腹水型)、C57BL16系のマウスを用いた Adenocarcinoma 755 (上皮性固型腫瘍)、ddS系マウスを用いた Friend virus leukaemia (脾内増殖)、Zb系マウスを用いた

C<sub>3</sub>H-A 細胞 (皮下腫瘍型)、また、ラットを用いてはドンリュウ系ラットに移殖する吉田肉腫 (腹水型) あるいは Wister 系ラット、SD系ラットに移殖する Walker 256 (上皮性固型腫瘍) 等である。我が国において維持されている移殖可能な腫瘍細胞については佐藤 (1970)<sup>39)</sup>の一覧表がある。

### Ⅲ. 組織から細胞分裂調節物質の抽出

#### A. 現状とその趨勢

動物組織には、例えばフグの卵巣のように有毒な物質が存在していることは古くから知られていた。そして、このような有毒な物質は、心筋や神経麻痺作用の他に強力な細胞分裂抑制作用を持っていることを発見したのはアメリカにおける生理学の中心人物の一人であった Heilbrunn 等 (1954)<sup>14)</sup>である。彼等は最初、ヒトデの卵巣から pH 5.8 の酸海水での抽出を試みた。その後、ウニ、魚類、カエル、ニワトリ、イヌ、ブタ、ネズミの卵巣からも同様の方法で細胞分裂の抑制物質が抽出されることを報告した。そして、化学的な分析の結果ヘパリンあるいは、ヘパリン様の物質であろうと推論した。この場合分裂細胞の材料として用いられたのはウニの受精卵であった。そして、現在も彼の門下生等によって主として海産動物から細胞分裂の促進物質と抑制物質の報告がなされつつある。

また、筋肉収縮の生化学で画期的な業績を残した A. Szent-Györgyi も、胸腺の機能の低下する頃から発癌する機会が多い事実に注目し、ウシの胸腺から細胞分裂の調節物質の抽出を試みた。そして、C3H マウスの乳癌や、移殖した Sarcoma 180 細胞、あるいは腹水型の Krebs 2 細胞の増殖を指標として、胸腺から細胞増殖促進物質 promine と、抑制物質 retine の2者が抽出されることを報告した (1963)<sup>43)</sup>。そして、彼は、生体内で細胞の増殖は、これ等促進物質と抑制物質のバランスによって維持されており、特に抑制物質は制癌物質として利用できることを強調した。そして、彼と彼の協同研究者等によって、胸腺の他、大動脈、筋肉や腱

からも同様の作用を持った物質が抽出され、promine の分画からは不妊作用を持った infer-tine が分離されることも報告した。その後、retine は、ヒトの尿からも抽出され、精製した物質は熱に安定で、セロファン膜を透過し、分子量は 1,000 以下で、Sephadex カラムによる分子量の推定では約 400 であるとした。そして、antibiotics に対応して、生体から抽出される分裂抑制物質を総称して autobiotics なる新語を提唱した。Woods Hole の臨海実験所の附近で大量に獲ることのできるハマグリ、特にその肝臓からも分裂抑制物質が抽出され、この物質は等電点が pH 4.1 辺りにあり、18 種類のアミノ酸を含む非透析性で熱に不安定な物質である。そして、retine の active center は methyl glyoxal であろうという所まで発展している。

一方、adrenaline の研究をしていた Bullough (1962)<sup>41</sup> は、マウスの 1 日中の活動性のリズムの中で、そのリズムと adrenaline の活性の変化はほぼ相関を示し、しかも、マウスの上皮細胞の分裂活性は adrenaline の活性と逆相関を示すことを発見した。そして adrenaline の活性を実験的に変化させる、例えば眠らせたり、傷を与えたり、逆に眠りを妨げたり、ストレスを与えたりした場合 adrenaline の活性の低い場合には上皮の分裂細胞が多く、逆に adrenaline の活性の高い場合には分裂細胞数が少ない結果をえた。分裂細胞数の多い組織や、再生し易い組織について細胞分裂におよぼす adrenaline の影響を調べたところ adrenaline の感受性の強い組織とそうでない組織のあることがわかり、彼は adrenaline に結合する物質が組織にあり、adrenaline と複合体を作って細胞の分裂を調節しているのではないかと考えた。そして、成熟マウス、ラット、モルモット、ウサギやブタの上皮の水抽出物が成熟マウスやウサギの上皮の分裂を抑制しこの抑制効果は adrenaline を併用した場合、さらに著しく現われることを発見した。そして、この上皮の抽出物は角膜上皮、涙腺、食道上皮の細胞分裂も抑制することを見出した。抽出物の有効成分を精製

し、この物質は非透析性の熱に安定な分子量約 40,000 で、塩基性の糖蛋白であり、これに chalone と名付けた。したがって adrenaline と複合体を作った場合は、chalone-adrenaline complex といわれている。抽出した組織により epidermal chalone とか、liver chalone と呼ばれている。彼および彼の協同研究者によって、chalone は、種特異性はなく、組織特異性のあることが判明した。初期の結果は、Emmelot & Mühlbock (1964)<sup>42</sup> に総説され、その後 Teir & Rytömaa (1967)<sup>43</sup> によっても総説されている。現在も多くの動物組織から組織特異性の強い chalone が発表されつつあり、分裂細胞は主として生体が用いられているが培養細胞が用いられている場合もある。

病理学、薬理学や生化学の分野では、分裂抑制物質を分裂装置形成の抑制 (spindle poisons) と染色体あるいは核酸合成の抑制 (chromosome poisons) において総説した Swann (1957)<sup>42</sup> や Dustin (1963)<sup>43</sup> の報告があるが、この報告には構造式もはっきりした物質を取り上げていて、現在開発中の物質や、動物組織から抽出された物質に関しては、わずか数行に纏めてあるに過ぎない。その他、Defendi (1967)<sup>44</sup>, Knock (1967)<sup>21</sup>, Meek (1970)<sup>25</sup> 等の抗癌物質に関する著書もある。

さて、我国においては、不幸にして生理学関係者でのこの方面の業績は非常に少ない。主なる者は、生化学者であり、病理学者である。中原、福岡等 (1965)<sup>27</sup> はウシの肝臓抽出液の遠心上清をアルコール分画し、Ehrlich 腹水腫瘍の増殖を抑制する分画をえた。この活性中心は hexose にあるらしい。また、寺山、大塚等 (1966)<sup>34</sup> は、ラットの肝臓 homogenate の遠心上清に、熱に不安定な、しかも、長時間透析すれば失活し、この失活は  $Mn^{++}$ ,  $Zn^{++}$  などで再賦活される金属蛋白結合物が、ラットの腹水肝癌細胞の DNA 合成を著しく阻害する作用のあることを見出した。勝田等 (1958)<sup>19</sup> もラットやウシの肝臓、さらには肝癌細胞からの抽出物がラット腹水肝癌細胞を培養して増殖させている

場合、その増殖を抑制する因子のあることを報告した。この因子には、高分子と低分子の物質があり低分子の物質は熱に安定な、耐酸、耐アルカリ、エタノール可溶の性質を持っている。また、杉原等 (1966)<sup>41)</sup>は、ヒトの平滑筋肉腫から Ehrlich 腹水癌の増殖を抑制または消失させる物質を抽出している。

その他、免疫学的な方法で特異的な細胞を不活性化する方法等があるが、この論文の主題から離れるので割愛する。

また、培養細胞を用いた実験で、細胞増殖の抑制因子として contact inhibition なる概念がある。これは、正常細胞を組織培養していくと、ガラス面に平行に増殖し、そして full sheet になれば、それ以上の増殖が停止する。しかし、癌細胞の場合は、隣接する細胞の上にも塊状に増殖を続けて行く。すなわち contact inhibition がかからない性質がある。再生肝の場合でも、元の肝重量以上には再生しないのは、contact inhibition がかかったからであり、癌組織は無制限に増殖を続け、あるいは転移を行なうのは contact inhibition がかからないからだという説明もある。しかし、種々の組織を培養に移行させると、正常細胞でも contact inhibition のかからない細胞が多く見付き、発癌した細胞でも contact inhibition のかかる場合もあり、普遍性に乏しいのではないかと考えられる。以上が細胞分裂の調節物質、特に抑制物質に関する研究の現状である。

#### B. われわれの教室で行なって来た成績

西田等 (1958)<sup>28)</sup>はネコの動眼神経を切断したあと、ある時間を経過すると、散大していた瞳孔が急に縮瞳しはじめ、遂には slit 状にまで縮小する現象を見出した。そして、これを実験的に分析した結果、この縮瞳現象は強力な縮瞳作用を持った物質によって引き起こされたものであり、しかも、この物質は角膜から浸出したものであろうと推定された。その後、福井 (1958)<sup>16)</sup>はウシの角膜からアルコール分画で縮瞳作用をもった物質の抽出に成功し、化学的性質からタンパクの一種であり、この物質にコルニンと

命名した。さらにコルニンは縮瞳作用の他、平滑筋運動の亢進、血管拡張、血圧下降等の生物学的活性をもっていることが明らかとなった。そして、角膜コルニンと同じような働きをする分画がウサギの骨格筋からも抽出され、他の生物学的活性ポリペプチドである substance P, bradykinin, kallidin, plasmakinin, plasmin 等とは化学的性質が異なることが宮原 (1959)<sup>26)</sup>、門 (1961)<sup>47)</sup>等およびその後の研究で明らかとなった。また、得本 (1962)<sup>47)</sup>は各種の組織から角膜コルニンと同様の方法で抽出される縮瞳物質の分布状態を調べたところ、substance P と生体内分布が良く似て居ることを見出した。日野 (1962)<sup>45)</sup>は角膜コルニンをウニ卵に作用させると、初期分裂を著しく阻害または遅延させることを見出し、これに反し、substance P は返って分裂の促進作用を示すことを報告した。西田等 (1964)<sup>29)</sup>、Nisida & Murakami (1965 a, b)<sup>30)31)</sup>は分裂像が少なく、再生能も少ない組織から抽出したコルニンがウニ卵の分裂を阻害する活性の高いことに注目し、substance P のような分裂促進作用を持った物質と、角膜コルニンや筋肉コルニンのような分裂抑制物質とのバランスによって、生体内組織の細胞分裂が調節されているのではないかと考えた。組織から細胞分裂抑制物質の抽出に当っては、次のような方法を行なって来た。まず、新鮮な組織あるいは新鮮な組織を  $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結保存したものをミンチで細かく切りきざみ、その組織ホモジネートに  $0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$  に冷やした 3 倍容量の脱イオン水を加える。 $0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$  の冷凍室中で時々攪拌しながら 1~3 時間水に溶出する物質を抽出、天竺木綿で濾過し、濾液に  $0^{\circ}\text{C}$  に冷した 99% のアルコールを加えて 70% アルコール濃度とする。 $0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$  で 3 時間放置の後、3,000 r. p. m. で 10 分間遠沈、沈澱物をさらに 99% アルコールに懸濁し、遠沈を行ない、アセトン、エーテルで同様の方法で洗い、エーテルを飛ばして乾燥さす。この粉末に水を加えて水に溶解する物質を抽出、10,000 r. p. m. で 20 分遠沈して上清を凍結乾燥して、標品とする。70% アルコール分画の

上清には、さらに冷した99%アルコールを加えて90%アルコール濃度とし、0°C~4°C に保って一夜放置、沈澱物を遠沈によって集め、アルコール、メタノール、アセトン、エーテルの順で洗い、アルコール70~90%画分とする。さらに90%画分の上清はロータリーエバポレータを用いて濃縮し、凍結乾燥を行ない90%上清画分とする。70~90%画分はさらに Visking 製の cellulose tube を用い、0°C~4°C の脱イオン水に対して透析を行ない、透析画分と非透析性画分に分離し、これらの各画分について 10<sup>-8</sup>g/ml の単位の溶液を作り、ウニ卵を用いて受精後の時間・分裂細胞数曲線で効果の検定を行なった。さらに、有効成分の熱に対する安定性を調べたところ、角膜や骨格筋から抽出した有効成分は100°C で10分の熱処理で失活しない70~90%画分であることが判明した。したがって、組織からの抽出に当り、図3に示すように、角膜や筋肉を用いて最初から沸騰水で抽出し、アルコール分画法で各画分を分離する方法を用いるようになった。そして、抽出した組織名を付けて、角膜コルニン等と呼ぶことにした。100°C で10分間の熱処理を行なうことによって一応酵素系は変性していると考えられ、作用機序を解析する上にも利点が生じたわけである。Nisida & Murakami (1965 a)<sup>31)</sup>は角膜コルニンをさらに DEAE-セルロースカラムで細分画を行ない、

三つの画分をえた。金尾 (1965)<sup>18)</sup>も筋肉コルニンの非透析性画分をえた。そして、サンショウウニ、バフンウニの受精卵の第1および第2分裂におよぼす影響を調べ、分裂遅延効果を示す画分は角膜コルニンでは 260 m $\mu$  に吸収を持った核タンパクと、もう一つはタンパク性の画分であり、筋肉コルニンの場合は 249 m $\mu$  に吸収を持った核タンパクと、紫外部に特異的な吸収の山を持たないもう一つのタンパク性の画分があることを見出した。そして、その最終有効濃度は両種のウニ卵共 10<sup>-8</sup> g/ml であった。その後、図4に示すような方法にしたがって、色々な組織からコルニン画分の精製が試みられウニ卵の分裂を指標にしてその調節作用が調べられた。寺坂 (1967)<sup>40)</sup>の報告によれば表1に示すように、分裂抑制効果は角膜および筋肉コルニンが最大で、肝、再生肝、大腸コルニンは非常に抑制作用が弱いことがわかった。その後西田等 (1966)<sup>33)</sup>は SV40 ウィルスの DNA で誘起させたハムスターの線維芽細胞を培養して株化した NA-FS 細胞に対しイヌの小腸コルニンは、0.1%の濃度で分裂を完全に阻止するのに対し、正常細胞であるハムスターの embryonic lung cell を起原とする Don 細胞やヒトの胎児から分離された primary human embryonic cell に対しては小腸コルニンを 1%の濃度にしても、細胞増殖には全く影響を与えない。すなわち、

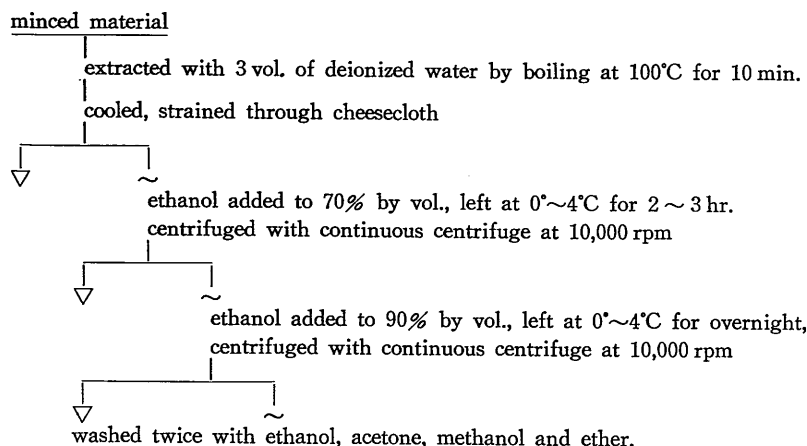


図3. いろいろな組織からのコルニンの抽出法

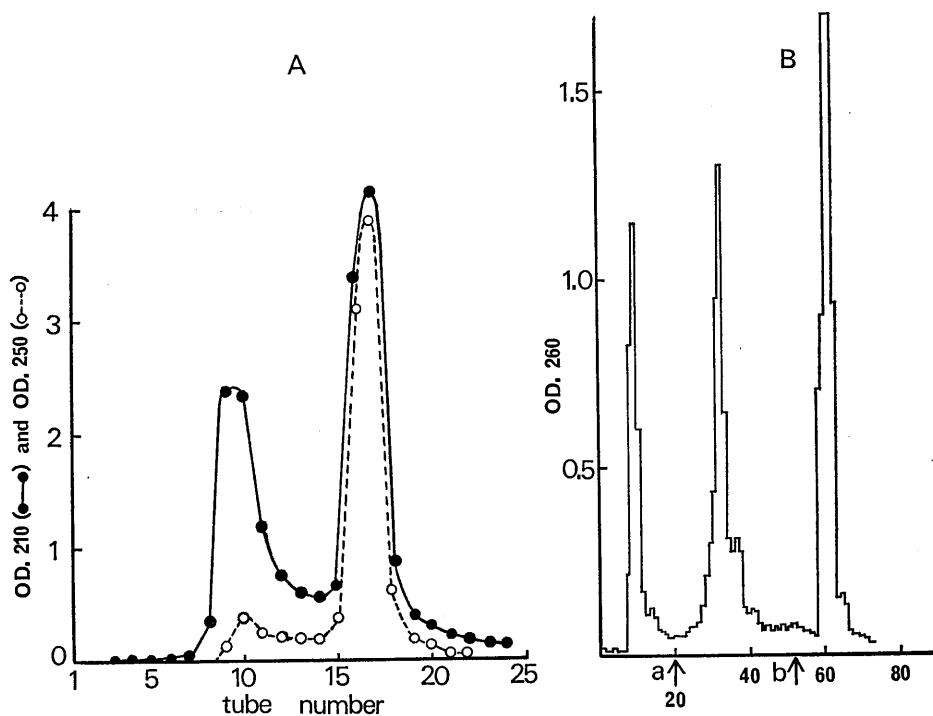


図4. (A) 筋肉コルニンをさらに Sephadex G-25 で細分画した場合のパターン. 分子量の小さいピークの方が, 活性が大. (B) 角膜コルニンを DEAE-セルローズカラムで細分画した場合のパターン. fraction II と III に活性がある.

表1. いろいろな組織から抽出したコルニンの最終有効濃度を示す. サンショウウウニの受精卵を用いて調べた成績

	Heart	Lung	Liver	Reg. Liver	Kidney	Placenta	Stomach		Intestine		Colon, Rectum		Cornea	Muscle
							Muscle	Mucosa	Muscle	Mucosa	Muscle	Mucosa		
Minimum effective dose (g/ml)	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-5}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-8}$	$10^{-8}$	

抽出に用いた組織と作用させる細胞系の間の特異性が存在することを見出した. その後 Ohya (1967)<sup>36)</sup>は Ehrlich 腹水癌細胞を ddN 系のマウスに移殖, また, C<sub>3</sub>H マウス乳癌細胞を Zb 系マウスに移殖し, 移殖後のマウスの体重の変化と生存日数におよぼす筋肉コルニンとイヌ小腸コルニンの影響を調べたところ, 筋肉コルニンは乳癌細胞の増殖を抑制し, 小腸コルニンは

Ehrlich 腹水癌細胞の増殖を抑制することを見出した. また, 木本等 (1968)<sup>20)</sup>は Ehrlich 腹水癌細胞を組織培養し, 株化した細胞系である JTC-11 細胞の増殖におよぼすウシ, イヌ, ブタの小腸コルニンの影響を比較したところ, イヌの小腸から抽出したコルニンがその抑制効果が最も著しく, 続いてブタ, ウシの順であった. 同じ傾向は, JTC-11 細胞をマウスの生体

内に移植した *in vivo* の実験でも示されたが、ウシの小腸コルニンには抗腫瘍性の活性が他の2者に比して低いことがわかった。一方、呑竜系のラットの肝臓由来の細胞に、同系ラットの肝臓から抽出した肝臓コルニンの影響が調べられた。木本等 (1968)<sup>20</sup> は呑竜系ラットの新生児の肝臓を切断し、17日間回転培養を行ない、増殖して来た細胞を静置培養に移し、継代維持して100日以内のRLM-1細胞、同じ方法でえられた細胞系であるが、培養を2,053日以上経過した細胞系で、特に、1,160日目に同系ラットに移植すると腫瘍を形成する場合もあり、試験管内で自然発癌したと考えられるRLN-10細胞、さらにアゾ色素のDABを264日と312日間与えてそれぞれ実験的発癌をさせ、さらに同系ラットに復元移植して腫瘍を形成させ、その腫瘍細胞を培養し株化に成功したC-83T、C-84BT細胞（しかし、悪性度はC-84BTの方が強い）の4系統の細胞を用い、同系の成熟ラットの肝臓から常法にしたがって抽出した肝臓コルニンを作用させ、その増殖におよぼす影響を調べた。すると、肝臓コルニンは正常肝細胞により近いRLM-1細胞、あるいは、RLN-10細胞の増殖は0.5%の濃度で完全に阻止するが、DABで発癌させたC-83T細胞やC-84BT細胞には1%の濃度においても、その増殖に影響がみられなかった。粗製の肝臓コルニンは1kgの材料から平均5gがえられる。したがってこの成分の生体内における生理的濃度は0.5%となり、正常肝細胞が生理的にその分裂を調節している画分と考えることもできる。そしてDABで発癌した肝細胞はその調節を受けていないといえる。その後大月（未発表<sup>35</sup>）は肝臓コルニンは他種の動物、例えばウシの肝臓から抽出した分画でも同様の作用のあることを見出した。すなわち種特異性よりもむしろ、臓器特異性のあることを暗示している。

生体から抽出される物質は多くの場合抗体産生能を持っていることは周知の事実である。そこでコルニンが抗原抗体反応を示すか否かが、原田 (1967)<sup>12</sup>、木本等 (1968)<sup>20</sup> によって調べら

れた。カイウサギの筋肉コルニン、イヌ小腸コルニン共に赤血球の凝集反応は認められず、コルニンは抗体産生能がないことが判明した。また、西田等 (1964)<sup>29</sup>、Nishida & Murakami (1965, b)<sup>31</sup>、金尾 (1965)<sup>18</sup> によって、コルニンが *toxohormone* ような作用のないことも確かめられた。

一般に細胞分裂抑制物質は生体内の全ての細胞の分裂を抑制する。したがって、この物質を生体に投与した場合造血機能の低下、精子形成の抑制、不妊、あるいは胎児の成長の抑制等の多くの弊害を避けることはできない。角膜コルニンはウニの精子の運動や受精能には影響をおよぼさないが、ウニ受精卵の分裂を著しく抑制することが日野 (1962)<sup>15</sup> によって報告されて以来、筋肉コルニンや各種臓器から抽出したコルニンのウニ卵割におよぼす影響が調べられた。最終有効濃度の差や、ウニの種による差、受精膜の有無の差、受精前に作用さすか、受精後に作用さすかの差、作用時間や温度の影響による差があるが、角膜コルニンとカイウサギの筋肉コルニンはウニ卵割を著しく抑制することが判明している。そこで哺乳動物の精子形成や、受精能におよぼす影響、および受精後の胎児の発生および分娩するまでの日数、分娩匹数、新生児の奇形の有無等が原田 (1867)<sup>12</sup>、藤井 (1970)<sup>10</sup> によって詳細に調べられた。それによると、新生児の時期に2%のカイウサギの筋肉コルニンを0.1cc皮下に15日間連日注射し、生後3週間して雌雄を別居させ、生後2ヶ月して雌雄1対1で10日間同居させ次いで別居させて分娩の有無を調べると、分娩匹数および同居開始から分娩するまでの日数は、Ringer液を注射した対照群と全く差がなく、奇形児の発生もみられない。また、生後3週間して雌雄を別居させ、生後約70日過ぎた生体を用い、同居前、および同居後10日間にわたり総量100mg~600mgの筋肉コルニンを腹腔内に注射し、同居させてから分娩するまでの日数、分娩匹数、奇形の有無を調べ、この場合もRingerを注射した対照群との間に差は全く認められない。さらに Zondek

& Aschekeim 法にしたがい卵胞形成や排卵におよぼす影響も調べたが、対照と差のない事が判明した。

生体から抽出されるポリペプチドや糖タンパクには溶血作用を持った物質が多い。そこで、角膜コルニン、筋肉コルニン、イヌ小腸コルニンをを用い、ヒト赤血球の溶血作用におよぼす影響が藤井 (1970)<sup>10)</sup>、大月 (未発表)<sup>35)</sup>らによって調べられた。ヒトから採血した血液を1%の食塩水で洗い血清を除き、赤血球の懸濁液を作り、その一定量を0.1%から2%の割でコルニンを含む低張の食塩水に分注し、37°Cに30分間保ち、遠心して、上清に溶出したヘモグロビン量を分光光度計で分析した。コルニンを含まない食塩水中では、食塩濃度が5.5%~5.0%の辺りで溶血が始まるのに対し、コルニン溶液中では6.0%ですでに溶血現象が認められ、コルニン濃度が高い程溶血を起こし易いこと、また、筋肉コルニンが最も溶血を起こし易く、続いてイヌ小腸コルニンで角膜コルニンは対照とほとんど差のないこと、および、溶血を起こさせる因子はViskingのセルローズチューブ膜に対しては透析性であることがわかった。また、Zimmerman等(1968)<sup>50)</sup>はArbacia(北米の太平洋岸に分布するウニの一種)の受精卵を用い、高水圧と遠心力を作用させて、実験的分割溝の誘起をさせることができるが、この場合、筋肉コルニンを $10^{-4}$  g/ml以上の濃度で受精前に作用させ、高水圧と遠心力を同時に作用させると、細胞は球形の多くの細片にわかれる現象が起こることを報告している。溶血現象や、この細胞分割現象は、コルニンが細胞膜の表面張力に変化をおよぼしていることに原因していると考えられる。

今、ウニ卵を用いた実験で、例えば蛋白合成を阻害し、そのために続いて細胞分裂も抑制をする puromycin や、メッセンジャー RNA 合成の阻害剤である actinomycin D も受精前に作用させれば、細胞分裂の抑制効果が現われ難い。角膜コルニン、筋肉コルニンについても同じ現象が日野 (1962)<sup>15)</sup>によって見出され、これ

は受精膜を機械的に取除くと、分裂の抑制効果が現われることから、コルニンは受精膜を透過し難いが、未受精卵の細胞膜や、受精膜を除去した細胞膜は透過することが推察された。

ウニの受精卵や、培養細胞の分裂の様式を位相差顕微鏡・16 mm 映画撮影法によって動的に解析した高橋 (1969)<sup>44)</sup>、山田 (1970)<sup>48)</sup>の成績によれば、ウニの受精卵、培養細胞共に、分裂装置の形成、特に位相差顕微鏡下で光って見える星状体や紡錘系の発達が阻害されていることが分裂の遅延を生じさせる原因であると結論した。映画撮影法によってウニの精子の運動に関しては筋肉コルニンは全く影響をおよぼさないことや、増殖している培養細胞に0.1%の肝コルニンを作用させると、分裂中の細胞はそのまま分裂は進行するが、新たに分裂中期に入る細胞はなくなる。盛んに運動している細胞も次第に偽足を収縮させるようになり細胞は突然線香花火のように爆発して死滅するのも見られた。しかし、崩壊してない細胞の細胞内顆粒は、24時間後においても停止はしていない。細胞周期のどの時期にあった細胞が崩壊するのは未だ明らかでない。

越宗 (1966)<sup>23)</sup>は筋肉コルニンがウニ卵および再生肝の<sup>32</sup>Pの透過性や、酸可溶性磷酸分画の合成に如何に作用しているかを調べた。再生肝に関しては、筋肉コルニンは<sup>32</sup>Pの透過性を抑制し、したがって、酸可溶性磷酸分画の合成も抑制していることがわかった。ウニの未受精卵についても、<sup>32</sup>Pの透過性を抑制しているが、ヌクレオチドの pool はあるがその合成が盛んでないためか、<sup>32</sup>Pのヌクレオチドへのとり込みの抑制はわずかである。しかし、受精後、4細胞期や桑実期にある細胞では、<sup>32</sup>Pのとり込みの抑制もあるが、ヌクレオチドの合成はほとんど完全に抑制されている。西田等 (1965)<sup>32)</sup>は高分子の核酸合成に筋肉コルニンがどのように作用しているかを調べ、ウニ卵の場合には<sup>32</sup>Pの核酸へのとり込みには、筋肉コルニンの作用は少ないが、分析用超遠沈法で調べると特にDNAの重合を抑制している結果をえた。さら

にラットの再生肝については、DNA 合成の抑制と、R-RNA 合成の抑制が認められることを報告した。Kobayashi (1969)<sup>22)</sup>は同じくウニ卵を用いて  $^3\text{H}$  でラベルされた uracil, uridine, thymine, thymidine の細胞全体、酸可溶性分画および核酸へのとり込みにおよぼす筋肉コルニンの影響を調べた。その結果、uridine は 10~20%の透過性の促進が認められるが他の uracil, thymine, thymidine は抑制される。DNA 合成は約 2/3 に抑制され、RNA 合成は受精後 30分までは約 40%も抑制されているが次第に抑制の割合は少なくなり、受精後 150分では約 20%と回復されて来る。原因は不明であるが thymidine の DNA へのとり込みについて、小数例であるが促進的な結果の出た場合もあった。藤田 (1969)<sup>11)</sup>は Ehrlich 細胞を組織培養することに成功した JTC-11 細胞を用いて、筋肉コルニンのヌクレオシド、ヌクレオチドの透過性、酸可溶性分画および核酸合成におよぼす影響を調べた。Thymine および uracil は細胞内への透過性が悪い。しかし thymidine と uridine は良くとり込まれ、そして、筋肉コルニンは、これらの細胞内へのとり込み、酸可溶性分画へのとり込みおよび DNA, RNA 合成をいずれも抑制することがわかった。さらに智片 (1970)<sup>4)</sup>はコルニン分画を作用さすことによって細胞増殖に対して抑制作用を持つインターフェロンの産生を透起しているのではないかと考え、ウニ卵の分裂を著しく抑制するウシの角膜コルニンとカイウサギの筋肉コルニンを用いて調べた。結果はインターフェロン産生の透起作用は認められなかったが、宿主細胞の DNA 合成を抑制することによってウィルスの増殖が抑制されることを示唆した。

熱水で抽出し、エタノールの 70~90% 画分でえられるコルニン分画を粗製コルニン分画とし、DEAE-セルロースカラム、sephadex G 200 カラム等で細分画し、ウニ卵の分裂や、培養細胞の増殖を指標にして、有効分画の精製が行なわれた。Nishida & Murakami (1965, a)<sup>31)</sup>、西田等 (1966)<sup>33)</sup>、智片 (1971)<sup>5)</sup>によると、角膜

コルニンは DEAE-セルロースカラムで三分画にわけられ、その内の二つの分画に分裂抑制作用があるが、ウニ卵の分裂抑制に対する最終有効濃度は粗製の場合と変化がない。また、筋肉コルニンも DEAE-セルロースカラムで三分画にわけられ、各分画の紫外部の吸収は角膜コルニンの場合と異なるが、細分画しても効率の上昇がない。培養細胞の増殖を指標にして、小腸コルニン、筋肉コルニンを Sephadex カラムでわけた細分画についても同様である。このことは、コルニン分画は各分画の相乗作用によって分裂を抑制しているのか、あるいは、画分中に変性が起こったためではないかと考えられる。-SH 基酸化防止剤の dithiothreitol (DTT) で各々の細分画を還元してみると、わずかに力価の上昇が認められる程度である。ただ一つ、Diaflo の ultrafiltration を用いて、分子量による細分画を行なうと、10倍の力価を持つ分画をうることに成功している。分裂抑制作用を持った分画で現在までに明らかになっている化学的組成は、Chikata (1971)<sup>5)</sup>によって報告され、表 2, 3 に示す。核酸部分は西田等 (1966)<sup>33)</sup>によって報告された。筋肉コルニンは inosinic acid を主成分とし、他に adenylic acid, guanylic acid を有し、その成分比を 100 mg 中の  $\mu\text{M}$  で示すとそれぞれ 17.6, 0.332, 0.332 となる。角膜コルニンの場合は adenylic acid, guanylic acid, citidylic acid および uridylic acid を含み成分比は 100 mg 中それぞれ 1.00, 1.04, 1.04 および 0.72  $\mu\text{M}$  であった。

この他、数種の高産動物から、Ehrlich 腹水癌細胞の増殖を抑制する分画がえられている。この物質は非透析性であるが、今迄のコルニン類とは異り、熱に不安定である。また、培養細胞の増殖を抑制する因子は、熱に安定である。

以上、教室で行なって来た成績の大略を述べたが、一つの増殖抑制物質は全ての細胞の増殖を抑制するのではなく、なりか局限された組織特異性を持っていることが特長である。現在、細分画を行ない、抑制物質の精製を行ないつつあるが、先述のように、細分画していても、活

性の上昇には必ずしも繋がらない場合があり、今後の問題として残されているところである。

細胞分裂の調節物質の抽出という課題は人類の悲願ともいわれる制癌物質の開発と密接に関係しているため、この方面の研究は世界的に盛んであり、論文も膨大な数に達する。しかし、癌細胞は依然として増殖しており、新たな見地から日本の生理学者の出番が待たれる所以である。

表2. 筋肉コルニンと角膜コルニンの化学的組成. 重量パーセントで表してある

Component	Muscle-cornin	Cornea-cornin
Nitrogen	2.2±0.3	10.0±1.3
Phosphorus (total)	19.3±0.7	2.8±0.3
(inorganic)	16.5±0.4	
DNA	—	0.8±0.2
RNA	2.2±0.4	12.0±1.7

#### 文 献

- 1) Bullough, W. S. (1962) The control of mitotic activity in adult mammalian tissues. *Biol. Rev.* **37**, 307-342
- 2) Cameron, I. L. & Padilla, G. M. (1966) Cell synchrony. *Studies in biosynthetic regulation.* Acad. Press, New York.
- 3) Cancer Chemotherapy National Service Center (1964) An outline of procedures for preliminary toxicologic and pharmacologic evaluation of experimental cancer chemotherapeutic agents. *Cancer Chemother. Res.* **37**, 1-33
- 4) 智片芳子(1970) ウイルスの増殖および哺乳動物細胞の DNA 合成におよぼす cornin の影響. *日本生理誌* **32**, 803-812
- 5) Chikata, Y. (1971) The effect of cornin on DNA synthesis in mammalian cells: On the chemical properties of cornin extracted from muscle and cornea. *日本生理誌* **33**, 266-267
- 6) Defendi, V. & Stoker, M. (1967) Growth regulating substances for animal cells in culture. *Wister Inst. Press, Philadelphia.*
- 7) 土井田幸郎(1969) 細胞分裂の制御機構と放射線. *生物物理* **9**, 21-33
- 8) Dustin, P. Jr. (1963) New aspects of the pharmacology of antimetabolic agents. *Pharmacol. Rev.* **15**, 449-480
- 9) Emmelot, P. & Mühlbock, O. (1964) Cellular control mechanisms and cancer. *Elsevier Pub. Co, Amsterdam,*
- 10) 藤井義信(1970) 筋肉コルニンの細胞分裂調節作用と、その *in vivo* 応用への基礎的研究. *岡山医誌* **82**, 549-560
- 11) 藤田 興(1969) 腫瘍細胞の核酸合成におよぼす筋肉 cornin の影響. *日本生理誌* **31**, 543-552
- 12) 原田英樹(1967) 筋肉 cornin の抗腫瘍効果とその *in vivo* 応用への基礎的研究. *岡山医誌* **79**, 89-96
- 13) Harris, R. J. C. (1963) Cell growth and cell division. *Acad. Press, New York.*
- 14) Heilbrunn, L. V., Chaet, A. B., Dunn, A. & Wilson, W. L. (1954) Antimitotic substances from ovaries. *Biol. Bull.* **106**, 158-168
- 15) 日野道夫(1962) CORNIN の細胞分裂に及ぼす影響. *岡山医誌* **74**, 729-740
- 16) 福井正男(1958) 角膜から抽出される縮腫物質 cornin に関する研究. *米子医誌* **9**, 673-681
- 17) 門 長生(1961) 角膜より抽出される縮腫物質 cornin に関する研究. *米子医誌* **12**, 71-84
- 18) 金尾浩志(1965) 筋肉から抽出した CORNIN の細胞分裂抑制作用に関する研究. *岡山医誌* **77**, 631-644
- 19) Katsuta, H., Takaoka, T., Hori, M., Saito, S., Suzuki, S., Someya, Y. & Ito, E. (1958) On the growth-promoting substances for rat ascites hepatoma cell in tissue culture. *Japan. J. Exp. Med.* **28**, 199-212
- 20) 木本克彦, 藤田 興, 小林芳治, 高橋誠一郎, 藤井義信, 山田俊典, 智片芳子, 大月 恒, 村上哲英, 西田 勇(1968) 生物学的活性 Polypeptide

表3. 筋肉コルニンと角膜コルニンのアミノ酸組成. コルニン 1g 中の  $\mu\text{M}$  で表わしてある

Amino acid	Muscle cornin	Cornea cornin
Aspartic acid	132	578
Threonine	60	255
Serine	85	435
Glutamic acid	242	894
Proline	†	293
Glycine	253	971
Alanine	151	875
Cystine	†	†
Valine	46	246
Methionine	†	†
Isoleucine	53	235
Leucine	76	680
Tyrosine	†	181
Phenylalanine	†	329
Lysine	65	356
Histidine	17	†
Arginine	28	353

† The content was too small to be exactly determined.

- CORNIN の細胞分裂に及ぼす影響 (IV). 岡山医誌 **80**, 1211-1222
- 21) Knock, F. E. (1967) Anticancer agents. Charles C Thomas Pub., Springfield.
  - 22) Kobayashi, Y. (1969) Effect of cornin on nucleic acid synthesis during early development in sea urchin eggs. Acta Med. Okayama, **23**, 569-588
  - 23) 越宗猪一郎 (1966) ウニ卵および再生肝の酸可溶性磷酸分画におよぼす筋肉 CORNIN の影響. 日本生理誌 **28**, 308-316
  - 24) Levine, L. (1963) The cell in mitosis. Acad. Press, New York.
  - 25) Meek, E. S. (1970) Antitumour and antiviral substances of natural origin. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg.
  - 26) 宮原昌彦 (1959) 角膜から抽出される縮腫物質 CORNIN の生物学的性状について. 米子医誌 **10**, 13-20
  - 27) Nakahara, W., Fukuoka, F., Maeda, Y., Tokuzen, R. & Tsuda, M. (1965) Effect of liver fractions on the growth of transplanted tumors. Gann, **58**, 87-89
  - 28) 西田 勇, 中山 沃, 福井正男, 三好実三, 浜村 寛 (1958) 動眼神経切断後にみられる奇異なる縮腫現象について. 米子医誌 **9**, 545-550
  - 29) 西田 勇, 村上哲英, 金尾浩志 (1964) 生物学的活性 Polypeptide CORNIN の細胞分裂に及ぼす影響. 細胞化学シンポジウム **14**, 57-70
  - 30) Nisida, I. & Murakami, T. H. (1965) Antimitotic action of cornin as a biologically active polypeptide I. Biochemical properties of cornin. Acta Med. Okayama, **19**, 1-9
  - 31) Nisida, I. & Murakami, T. H. (1965) Antimitotic action of cornin as a biologically active polypeptide II. Physiological effects of cornin on dividing cell. Acta Med. Okayama, **19**, 11-18
  - 32) 西田 勇, 村上哲英, 藤 芳子, 原田英樹 (1965) 生物学的活性 Polypeptide CORNIN の細胞分裂に及ぼす影響 (II). 細胞化学シンポジウム **15**, 225-231
  - 33) 西田 勇, 村上哲英, 藤 芳子, 越宗猪一郎, 寺坂俊明, 高橋誠一郎, 木本哲夫 (1966) 生物学的活性 Polypeptide CORNIN の細胞分裂に及ぼす影響 (III). 細胞化学シンポジウム **17**, 207-216
  - 34) Ohtsuka, H. & Terayama, H. (1966) Inhibition of DNA synthesis of ascites hepatoma cell by normal liver extracts. Biochim. Biophys. Acta **123**, 274-285
  - 35) 大月 恒 (未発表)
  - 36) Ohya, T. (1967) Studies on the effect of tissue substance "cornin" on transplantable malignant tumor in mice. Acta Med. Okayama, **21**, 227-250
  - 37) Padilla, G. M., Whitson, G. L. & Cameron, I. L. (1969) The cell cycle. Gene-enzyme interactions. Acad. Press, New York.
  - 38) Pernow, B. (1953) Studies on substance P. Purification, occurrence and biological actions. Acta Physiol. Scand. **29**, Sup. **105**, 11-32
  - 39) 佐藤 博 (1970) 日本で維持されている可移植性シェヨウー覧表. 蛋白質・核酸・酵素 **15**, 624-644
  - 40) Stecher, P. G. (1968) The Merck Index. 8th Ed., Merck & Co., Inc. Rahway.
  - 41) Sugihara, Y. & Araki, F. (1966) Growth-inhibiting substance prepared from human leiomyosarcoma. Gann, **57**, 287-289
  - 42) Swann, M. M. (1957) The control of cell division. A review I. General mechanisms. Cancer Res. **17**, 727-757
  - 43) Szent-Györgyi, A., Hegyeli, A. & Mc Laughlin, J. A. (1963) Cancer therapy: A possible new approach. Science, **140**, 1391-1392
  - 44) 高橋誠一郎 (1969) 筋肉コルニンの細胞分裂抑制作用について——位相差顕微鏡映画撮影法による観察. 岡山医誌 **81**, 59-70
  - 45) Teir, H. & Rytömaa, T. (1967) Control of cellular growth in adult organisms. Acad. Press, London.
  - 46) 寺坂俊明 (1967) 各種臓器より抽出した CORNIN の細胞分裂抑制作用に関する研究. 岡山医誌 **79**, 734-742
  - 47) 得本博允 (1962) 縮腫物質 cornin の生体内分布について. 岡山医誌 **74**, 679-683
  - 48) 山田俊典 (1970) ラットの肝臓から抽出した cornin のラット肝細胞の分裂に及ぼす影響——位相差顕微鏡映画撮影法による観察. 岡山医誌 **82**, 561-574
  - 49) Zeuthen, E. (1964) Synchrony in cell division and growth. Interscience Pub. New York.
  - 50) Zimmerman, S. B., Murakami, T. H. & Zimmerman, A. M. (1968) The effects of selected chemical agents on furrow induction in the eggs of *Arbacia punctulata*. Biol. Bull. **134**, 356-366

ヒト血液線溶系における proactivator-activator 系——ヒト血漿より分離した fibrinogen, plasminogen および proactivator を使用した合成線溶系における研究 612. 115

岡 本 歌 子 (神戸学院大学栄養学部生理学研究室)

**Proactivator-activator system in human plasma fibrinolysis : Studies on the synthetic fibrinolytic system composed of functionally pure fibrinogen, plasminogen and proactivator, separated from human plasma** Utako OKAMOTO (*Laboratories of Physiology, Faculty of Nutrition, Kobe-Gakuin University, Kobe*)

The amino acid composition of fibrinogen and biological nature of other fibrinolytic components in plasma are different in species of animals. Therefore, to investigate the physiological function of fibrinolytic components of man, it is necessary to use fibrin and fibrinolytic components of human origin. This study was undertaken to know the difference in function between proactivator and plasminogen using the synthetic fibrinolytic system composed of functionally (not chemically) pure human fibrinolytic agents.

Fibrinogen used in the system was obtained by salting out the BaSO<sub>4</sub>-treated fresh plasma with 25% saturated ammonium sulfate and subsequent gel filtration. Plasminogen without proactivator activity was obtained as a separate fraction on the gel filtration. Activator fraction was produced by addition of SK to proactivator fraction and subsequent gel filtration to remove the excess of SK. Using the above mentioned fibrinogen, plasminogen and activator, the synthesized fibrinolytic system was composed. In the reaction system, the activator did not cause fibrinolysis not only in case plasminogen was not added but also in case SK was added to plasminogen in place of the activator. The lysis time of fibrin clot was proportional to the dilution of activator solution. This fact indicates that the rate of activator formation from proactivator can be one of the factors determining the rate of fibrinolysis in human plasma. [J. Physiol. Soc. Japan (1972) 34, 147-155]

**key words** : fibrinolysis, plasmin, plasminogen-activator, plasminogen-proactivator.

I. 序 論

1960年および1962年に、Greig & Cornelius<sup>9)10)</sup>は、streptokinase (SK) によって活性化され、ウシの fibrinogen を使用して作製された standard fibrin plate を溶解するが、heated fibrin plate を溶解しない分画を、ヒトの血清および Cohn の血漿第Ⅲ分画からえて、Astrup<sup>1)</sup>の仮定した plasminogen-proactivator の実在を強調した。

また、1964年、Takada et al<sup>23)</sup>は Sephadex による chromatography で、ヒトの乾燥血漿から SK によって活性化され、ウシの fibrin

(plasminogen を含む) を分解する作用をもつ分画をえて、この分画中の SK に反応する因子を、plasminogen-proactivator A と仮称した。この proactivator A は、ウシ、天竺ネズミ、ウサギ、イヌ等の血中にはほとんど存在せず、ヒトの血漿に特有なもののようなものである<sup>24)25)</sup>。

しかし一方、Blombäck & Sjöquist<sup>4)</sup>が指摘したように、ヒトの fibrinogen は、他の動物の fibrinogen とはアミノ酸の配列が異なる。また plasminogen についても、ヒトの urokinase (UK) に対する反応性は、動物の種によって異なるように思われる。したがって、ヒトの血液における proactivator の実在について論じ、また proactivator-activator 系の研究を行なうためには、すべてヒトの血液から分離し

た因子によって組立てられた合成線溶系で実験を行なうことが望ましい。

本論文は、1) ヒトの血漿から分離した proactivator を SK で活性化して plasminogen-activator を作製し、2) 一方線溶因子を含まないヒトの fibrinogen、および proactivator 作用を示さない plasminogen を分離し、3) これらによって作られた合成線溶系において、proactivator に由来する activator の作用を検討した成績について記載したものである。

## II. 材料および測定方法

### 材 料

1. 血液：健康成人の静脈血を使用した。
2. 乾燥血漿：日本製薬株式会社のヒトの乾燥血漿を使用した。
3. Cohn の第1分画：ヒトの第1分画は、ミドリ十字から提供されたものを使用した。ウシの第1分画は Armour Laboratories の Bovine fraction 1 を使用した。
4. Thrombin：持田製薬株式会社の局所用ウシ・トロンビン、またはミドリ十字のヒト・トロンビン。
5. Streptokinase (SK)：Lederle Laboratories の Varidase。
6. Urokinase (UK)：ミドリ十字より提供された研究用純ウロキナーゼ (grade 2)。
7. Sephadex：A. B. Pharmacia の Sephadex G-200。
8. 緩衝液：tris-HCl 緩衝液は M/5 NaCl を含む M/10 tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0)、硼酸緩衝液は 1 l 中に  $H_3BO_3$  11.25g,  $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$  4g, NaCl 2.25g を含む緩衝液 (pH 7.75) である。4, 5 は生理食塩水に、6 は純水に溶解して使用した。

### 測定法

1. ゲル透過：Flodin & Killander<sup>7)</sup> の方法に準拠して、既述の論文<sup>23)</sup> と同様の方法で Sephadex G-200 を使用して行なった。Column dimension は  $2.5 \times 50$  cm, 溶出は前記の tris-HCl 緩衝液で行なった。流速は 0.3 ml/min,

fraction collector の 1 試験管中に採取した液の量は 5 ml であった。

2. 蛋白量の測定：Lowry et al<sup>15)</sup> の方法によった。0.4ml の溶出液に 2.0ml のアルカリ性銅試薬を加え、10分後に Folin の試薬 0.2 ml を加え、混和後30分間室温に放置した後、氷室に一夜放置して発色を安定させ、750 m $\mu$ m で吸光度を測定した。

3. 凝固性蛋白の定量：重量法<sup>8)</sup> を用いた。1.0ml の溶出液に 100u/ml thrombin 0.1ml を加え、37°C で30分間放置し、析出する fibrin をガラス棒に巻きつかせ、純水で水洗後、無水アルコールおよびエーテルで脱水し、重量が減少しなくなるまで乾燥して秤量した。

4. Fibrin clot lysis法：とくに記載がない限り bovine fraction 1 の 0.33% 溶液 0.3ml と、50u/ml bovine thrombin 溶液 0.1 ml に、tris-HCl 緩衝液または後述の線溶因子を含む分画を加えて、1.0ml の fibrin clot を作成し、この clot が完全に溶解するまでの時間を 37°C で測定した。線溶活性の表現は 1000/ 溶解時間 (min) で表現した。溶解時間の測定に使用した小試験管の内径は 12 mm であった。

SK 活性化線溶の測定には、試料 0.2 ml に 100u/ml SK を 0.1ml, tris-HCl 緩衝液 0.3ml を混和し、37°C の恒温槽中で10分間 incubate し、この試験管を氷水を入れた水槽中に移し、さらに 50u/ml thrombin と 0.33% fraction 1 液を加え、形成された fibrin clot が完全に溶解するまでの時間を測定した。

5. Fibrin plate 法：原的には Astrup<sup>2)</sup> および Lassen<sup>13)</sup> の方法にしたがって、standard および heated fibrin plate を作製した。直径80mmのシャーレ中に硼酸緩衝液に溶解した 0.4% bovine fraction 1 4 ml を入れ、10u/ml bovine thrombin 2 ml を加え、混和して fibrin plate を作製した。これを unheated fibrin plate とした。さらにこれを 85°C で45分間加温し、fraction 1 中に含まれる plasminogen を破壊して、heated fibrin plate を作った。

この両 plate 上に被検試料 0.03 ml を滴下し, 37°C で18時間 incubate して, fibrin の溶解面積を測定した. 線溶活性は, 面積 (横径 × 縦径 mm<sup>2</sup>) で表現した.

UK 活性化線溶 (plasminogen) の測定は試料0.2ml に10u/ml UK 0.1ml を加えて, その混合液の活性を上記の heated fibrin plate 上で測定した.

6. Casein 分解法: Hammers-tan の casein を Norman<sup>18)</sup> の方法で純化し, 4% 溶液を作った. この溶液 1.0ml に試料 1.0ml を加え, 37°C で一夜放置後, 10% の trichloroacetic acid 3.0ml を加えて反応を停止させ, 遠心分離して上清中の casein 分解産物を上記の Lowry et al<sup>15)</sup> の方法で測定した.

7. Thrombelastography (TEG)<sup>16)</sup>: 健康人血液を disposable syringe を用いて採血し, はじめの 1 ml を捨て, 針を残して syringe を変え, 後の syringe で採った血液中の 0.3ml を Hartert の thrombelastograph の cylinder 中で37°C に保温し, plasminogen-activator 液 0.06ml を加えて, 流動パラフィンで表面をおおい, 採血開始から2分以内に血餅の弾性的変化を photokimographically に記録した.

### III. 実験成績

A. 血漿因子に由来する plasminogen-activator の作製 (ウシ線溶系を使用しての検出)

1. SK によって活性化される plasminogen-activator の前段階物質 (proactivator) の分離

100mg のヒトの乾燥血漿を 5 ml の tris-HCl 緩衝液に溶解して, Sephadex G-200でゲル透過した. Fraction collector で採取した溶出液の SK 活性化線溶作用を, ウシ fibrin を用いて clot lysis 法で測定した. また同一試

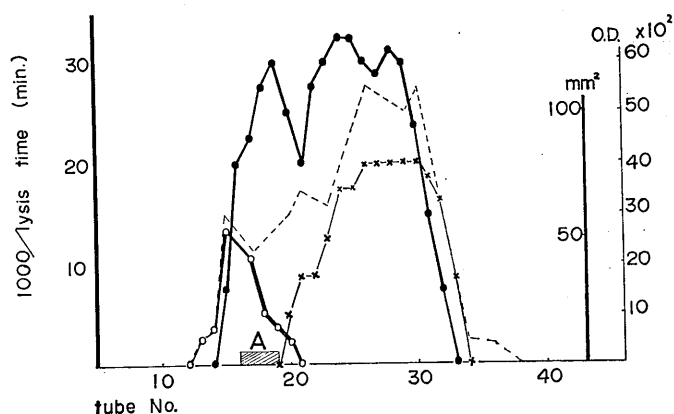


Fig. 1. Gel filtration of fibrinolytic components on Sephadex G-200 at pH 8.0. 100 mg human dried plasma dissolved in 5 ml tris-HCl buffer solution was applied to a column, 2.5 × 50 cm, at 4°C. Fractions of 5.0 ml each were collected at a flow rate of 0.4 ml/min. —●— SK-activated fibrinolysis measured by clot lysis time. —×— UK-activated fibrinolysis measured on heated fibrin plate (plasminogen). —○— clottable protein (fibrinogen). --- protein measured by Lowry's method (750 mμ O. D.).

料に UK を加えて heated fibrin plate で UK 活性化線溶作用を測定した.

各試料中の蛋白量は Lowry<sup>15)</sup> の方法によって測定し, 750mμ の吸光度のまま, SK 活性化線溶作用, UK 活性化線溶作用と共に Fig. 1 に描記した.

Fig. 1 の chromatogram において, No16 ~19 (A 分画の) 溶出液は, SK で活性化され, plasminogen を含むウシの fibrin を分解するが, plasminogen の存在がなければ (heated fibrin plate では) fibrin を分解しなかった. したがってこの溶出液中には, SK によって活性化され, ウシの plasminogen を活性化する因子が存在する. 著者らはこのような plasminogen-activator の前段階物質を, Astrup にならって proactivator と呼んでいる. UK によって活性化され, heated fibrin plate を溶解する線溶因子 (plasminogen) は proactivator よりもおくられて溶出された.

2. Plasminogen-proactivator より plasminogen-activator の作製

500mg のヒトの乾燥血漿を, 5 回にわけて 1

に記載した方法でゲル透過し、A分画をえた。5回分のA分画を集めて15倍に濃縮した。濃縮は、溶出液をVisking tubeに入れ、0°Cの氷室でfanをかけて行なった。

濃縮した試料については、heated および unheated fibrin plate 上で plasmin および activator が存在しないことを確かめた。また heated fibrin plate 上で UK の存在下で plasminogen が存在しないことも確かめた。

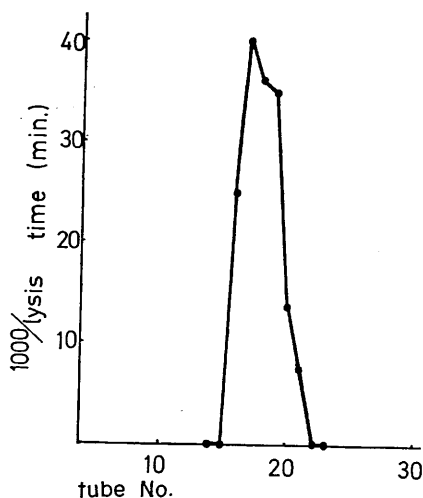


Fig. 2. Chromatography of plasminogen-activator on Sephadex G-200. Proactivator fraction obtained from 500mg of dried human plasma was mixed with 1000 u SK, and the mixture was applied to a column after 60 min incubation at 37°C. Condition of gel filtration was the same as that in the experiment in Fig. 1. Activator activity was measured by clot lysis time without adding SK.

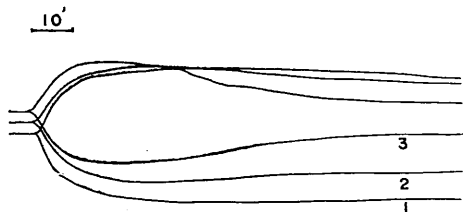


Fig. 3. Influence of plasminogen-activator upon thrombelastogram of human blood. 1. whole blood 0.3 ml + physiologic saline 0.06 ml. 2. whole blood 0.3 ml + activator solution diluted 2 fold with physiologic saline 0.06 ml. 3. whole blood 0.3 ml + activator solution 0.06 ml.

この濃縮液に、1000u/ml SK を 1 ml 加え、37°C で60分間 incubate し、存在する proactivator を activator に活性化した。さらにこの activator を含む液から、もし遊離して存在するならその過剰の SK を除去するために、既述の論文<sup>2)</sup>のように Sephadex G-200 で再度ゲル透過を行なった。ゲル透過の条件は Fig. 1 と同じであった。

再度ゲル透過した溶出液の activator 活性は clot lysis 法で測定した。反応混合液は次のようであった。被検液0.4ml, tris-HCl 緩衝液0.2 ml, 50u/ml thrombin 液0.1 ml, および0.33% ウシ・fraction 1 0.3ml.

Fig. 2 に activator 活性の chromatogram を示した。

この activator の出現の位置は使用した A 分画 (proactivator) が溶出された位置とほとんど変らなかった。

この activator は、実験方法の項に記載したようにして測定したが、casein に対する分解作用は少しも認められなかった。また unheated fibrin plate では溶解が認められたが、heated fibrin plate では認められなかった。すなわち、ここに認められた線溶因子は plasmin ではなく、plasminogen activator であることが示された。

この activator 作用を示す試料を集めて混和し、ヒト新鮮血の TEG に対する影響をしらべた。

TEG の3コの cylinder に、1) 生理食塩水、2) 2倍に希釈した上記 activator 液、3) activator 液を、それぞれ0.06ml ずつ入れておき、これに健康人の新鮮全血を0.3ml ずつ加え、流動パラフィンで表面をおおい、37°C で TEG 曲線を描いた。

Fig. 3 に示すように、凝固時間の変動は認められないが、最大振幅は、activator をを加えた例 (2), (3) では対照 (1) にくらべて明らかに小さく、fibrin clot の弾性が最大に達する以前にすでに fibrin 分解または fibrinogen 分解がはじまっていることを示している。このよう

に、この activator はウシ・fibrin と同様にヒトの fibrin をも分解することが示された。

B. 線溶因子を含まない fibrinogen および proactivator を含まない plasminogen の作製 (ウシの fibrin を使用しての検出)

ヒトの新鮮な静脈血から次のようにして、fibrinogen および plasminogen を作製した。

1) 肘静脈より採取した静脈血に 1/10 容量になるように 3.8% クエン酸ソーダを加え、遠心分離して血漿をえた。2) この血漿 1 ml に 100 mg の割合に硫酸バリウムを加え、37°C で 15 分間攪拌した後上清を遠心分離した。3) この BaSO<sub>4</sub> 処理血漿 3.0 ml に飽和硫酸 1.0 ml を加え 30 分間氷水中に静置し、遠心分離して沈澱を採取した。4) この沈澱を 3.0 ml の tris-HCl 緩衝液に溶解し、前記の条件で Sephadex G-200 でゲル透過した。Fraction collector の各試験管の溶出液について、実験方法の項に記載したように凝固蛋白を測定し、また SK 活性化線溶、UK 活性化線溶を、ウシの fibrin を基質として測定した。

実験結果の 1 例を Fig. 4 に示す。No 14~18 の試料では凝固蛋白が認められたが、この試料中には SK および UK 活性化線溶は認められなかった。こうしてえられた fibrinogen 分画は、線溶因子 (plasminogen, proactivator) を含まないので、冷凍乾燥して保存しておき、実験前に純水で溶解して次の実験に使用した。

素材としてヒト新鮮血漿の代りに輸血用の保存血の血漿またはヒトの Cohn の第 1 分画を使用した場合には、fibrinogen の分画中に SK 活性化線溶因子が混入し、両者の分離が不可能になった。したがって線溶因子を除外した fibrinogen をうる目的のためには、できるだけ新鮮

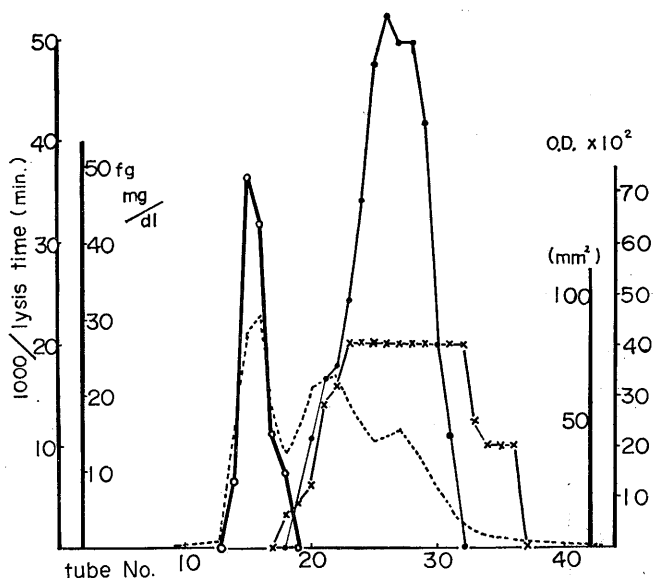


Fig. 4. Gel filtration of fibrinogen and fibrinolytic components on Sephadex G-200. The precipitate obtained from 3 ml BaSO<sub>4</sub>-treated human plasma by adding (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to 25% saturation was dissolved in 3 ml tris buffer. The aliquot was applied to a column. Column dimension, effluent volume and flow rate were the same as those in Fig. 1. ○—○—○ SK-activated fibrinolytic activity measured by clot lysis time. ×—×—× UK-activated fibrinolysis measured on heated fibrin plate (plasminogen). ○—○—○ clottable protein (fibrinogen). --- protein measured by Lowry's method (750 mμ O. D.).

Table 1. Relation between activator and plasminogen in fibrinolysis with human plasma

No.	1	2	3	4
activator solution	0.1ml	0.05ml	0 ml	0.3ml
plasminogen solution	0.3ml	0.3 ml	0.3ml	0 ml
tris-HCl buffer	0.2ml	0.25ml	0.3ml	0.3ml
50 u/ml human thrombin	0.1ml	0.1 ml	0.1ml	0.1ml
0.33% fibrinogen solution	0.3ml	0.3 ml	0.3ml	0.3ml
clot lysis time	10min.	10min.	>3 days	>3 days

なヒトの血漿を素材として使用すべきである。

また Fig. 4 の No 32~36の試料は、SK 活性化線溶を示さないが、UK で活性化されてウシの fibrin を分解した。すなわち、前述の“proactivator を含まない plasminogen” の分画である。

C. ヒト合成線溶系を使用した proactivator

由来 activator の作用についての研究

1) Fibrinogen 液としては, B で作った fibrinogen の粉末を 100 ml 中に凝固蛋白が 330 mg 含まれるように純水で溶解した. 2) Plasminogen 液は Fig. 4 の No 33 および 34 の溶出液を使用した. 3) Plasminogen-activator としては, Fig. 3 の TEG に使用した activator 液を使用した.

1) 2) 3) を, Table 1 に示すような割合で氷水の水槽中で混和し, 37°C の恒温槽中に移し, 3 日間, clot lysis を観察した.

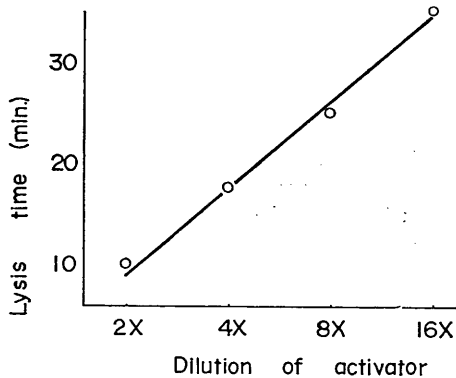


Fig. 5. Relationship between activator concentration and fibrinolytic activity in the presence of a definite amount of plasminogen.

Reaction mixture contains the following :  
practically proactivator free plasminogen solution

	0.3 ml
serially diluted activator solution	0.3 ml
0.33% fibrinolytically pure fibrinogen	0.3 ml
50 u/ml thrombin	0.1 ml

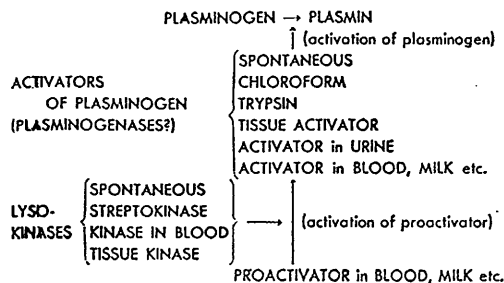


Fig. 6. The scheme of plasminogen activation (Astrup, 1956).

Table 1 の No 1 および No 2 は, 前記の activator が plasminogen の存在下に線溶をおこすことを示している. No 3 および No 4 は 3 日間観察したが clot lysis が認められなかった. すなわち plasminogen または activator のどちらか一方が反応混合液中に欠けていれば線溶がおこらないことを示している.

なおこの plasminogen に, proactivator を活性化するために使用した計算量の SK を, activator の代りに加えても clot lysis は認められなかった. したがってこの plasminogen の活性化は proactivator と SK とによって作られた activator によるものである.

次に, 一定量の plasminogen の存在下に, 系列的に希釈した activator 液を加えて, Fig. 5 に記すような反応混合液で fibrin clot を作り, clot lysis time を測定した. 測定結果は Fig. 5 に画いたが, この実験条件では, 加えられた activator 量の増加により, clot lysis の速度はほとんど直線的に速くなった.

この事実は, plasminogen が十分に存在している条件では, proactivator から形成される activator の量が, ヒトの血漿の線溶現象の律速因子となりうることを示している.

#### IV. 考 察

1956 年 Astrup<sup>1)</sup> は, 彼の学派の研究成績<sup>13)17)</sup> に基いて, ヒトの線溶系について Fig. 6 に示す図式を提唱した. すなわち SK は plasminogen に直接作用するのではなく, 他の lysokinases と同じく proactivator を活性化して activator にすると記した. しかしこの proactivator は Müllertz & Lassen<sup>17)</sup> の間接的な実験によったものであり, Lassen のその後の研究においてもなお proactivator と plasminogen とを分離して行なった実験はない. その後 De Renzo (1960)<sup>6)</sup> は, plasminogen の精製の過程において plasminogen と proactivator との比率が変らないことから, proactivator と plasminogen が別個の因子であるかどうかについて疑いを持った. Kline & Fish-

man (1961)<sup>12)</sup>は、ヒトの plasmin に SK を加えると activator が形成される。すなわちヒトの plasmin が proactivator 作用をもつのであると報告した。このように proactivator という特殊な線溶因子の存在が否定されかけている時に、Greig & Cornelius (1960)<sup>9)</sup>, (1962)<sup>10)</sup>および著者ら<sup>23)</sup>が plasminogen を含まない proactivator 作用をもつ分画を、独立に異った方法で分離した。その後著者らのグループの研究<sup>20)</sup> 21)<sup>23)</sup> 24) は Nitta ら (1967)<sup>19)</sup> によって確認され、ヒトの血漿中の proactivator の存在は疑いのないもののように思われた。

しかし一方 Hummel et al<sup>11)</sup>は、1966年、plasminogen の SK による活性化に対して Fig. 7 のような説を提出し、ヒトの plasminogen と SK との complex または SK とヒトの plasmin との complex が activator であり、これがさらにヒトまたはウシの plasminogen を活性化するのであると考えた。

Astrup 学派および著者らの見解と Hummel 説との根本的な差異は、SK によって活性化されるヒトの血漿中の物質が、1) 2種の異なる因子であるのか、2) plasminogen そのものが2種の作用をもつのか、という点である。

これら2者の実験条件の差異は使用した基質にある。1) は fibrin を使用し、2) は casein または合成エステルを使用している。すでに高田<sup>22)</sup>が示したように、血液酵素による casein または TAME の分解は、proactivator の関与を要しない反応である。したがって casein や合成エステルを基質として行なった実験結果から線溶現象の活性化過程を推論することは不合理であり、1) と 2) から異った結果が出された場合には、生理学的見地から、著者は fibrin を基質として出された結論をとるべきであると考える。

また、fibrin についても、ヒトの線溶系における活性化過程を論じるには、ヒトの fibrin によって実験は確認されなければならない。とくに Blombäck ら<sup>4)</sup>が指摘しているように、fibrinogen は、動物の種により、アミノ酸組成、

配列が異なるからである。

しかしすでに報告されているような精製法では、線溶因子を含まないヒト fibrinogen をうることは不可能に近かった。Blombäck 法でえられた fibrinogen にも Berg ら<sup>3)</sup>は plasminogen の存在をみており、著者もまた plasminogen および proactivator の混在をみている(未発表)。

本論文の実験に使用した fibrinogen は、単純な塩析とゲル透過によりヒト血漿からえられたもので、もちろん化学的には不純であるが、plasminogen および proactivator を含まないという点では、線溶的に純粋な標本であった。

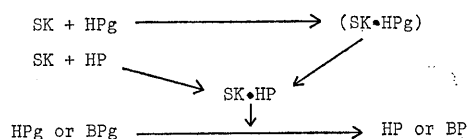


Fig. 7. The scheme of plasminogen activation by SK (Hummel et al. 1966). HPg: human plasminogen, BPg: bovine plasminogen, HP: human plasmin, BP: bovine plasmin, SK: streptokinase.

また plasminogen も同様の方法によってえられた。ただこの proactivator free plasminogen は同一方法で実験しても再現性が高いとはいえない。筆者は数例の同一と思われる条件でのゲル透過において、2例だけはっきりと分離できた例に遭遇した。これらの例においては、この plasminogen 分画は SK 活性化はなく、UK によってのみ活性化されることを繰返し確認している。

またこのような plasminogen 分画は、ヒトの第1分画 (Cohn), 乾燥血漿およびそれから作製された euglobulin, 第Ⅲ分画 (Cohn) および Kline の plasminogen のゲル透過では、うるることができなかった。これらの場合には plasminogen は、透過されてくる peak の位置は異っても、常に proactivator 作用を示す分画の中に含まれてしまっていた。Proactivator を含まない plasminogen 分画を確実にうるためには、まだ手技上幾多の問題が残されている。

また, proactivator から作製した activator について TEG 曲線を描いているが, この曲線において凝固開始時間には変動が認められなかった. この事実は, はじめに使用した proactivator 中には fibrinogen が含まれているのであるから, SK 添加で作製した activator は fibrinogen を分解せず, 凝固阻止作用を示す FDP を作らないもので, plasmin とは異質のものであることを示唆する.

上記の fibrinogen から作製した fibrin, plasminogen, および proactivator から作製した activator を使用した実験では, plasminogen または activator のいずれか一方が欠けていれば fibrin の分解はおこななかった. この事実は, ヒトの線溶系において proactivator から形成された activator は, plasminogen の活性化をおこなすものであり, ヒト線溶系においては, proactivator-activator 変換が重要な役割を荷いうることを示唆する.

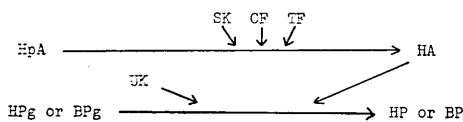


Fig. 8. The scheme of plasminogen activation. HpA : human proactivator, HA : human activator, HPg : human plasminogen, BPg : bovine plasminogen, HP : human plasmin, BP : bovine plasmin, CF : contact factor, TF : tissue factor, SK : streptokinase, UK : urokinase.

SK による動物の線溶作用は, Clifton<sup>5)</sup> が指摘しているように, 種により反応性が異なり, ヒトにおいてその作用が最も強い. Takada et al<sup>24)</sup> は, ウサギには, ヒトの proactivator に相当する SK 反応性因子が欠けていると記載しているが, proactivator の存否, 強弱は, 線溶現象の系統発生的な見地から興味ある課題である.

SK に代わる生体内 proactivator 活性化因子としては, 血液内では接触因子<sup>26)</sup>, また細胞内では組織活性化因子の存在が, 高田らおよび著者<sup>27)</sup> によって報告されている. これらの結果を Hummel<sup>11)</sup>, Astrup<sup>1)</sup> にならってあえて図

式化すれば Fig. 8 のようになる.

## V. 総括

1. ヒト血漿を素材として, plasmin を含まない plasminogen-activator 分画をえた. SK とウシの plasminogen の存在下にウシ fibrin を分解する因子 (proactivator) を含む分画をえ, これに SK を加えてゲル透過し, ウシ plasminogen を活性化する activator をえた. この activator は作製に要した SK よりもはるかに強く TEG でヒト全血の線溶活性を示した.

2. ヒト血漿より線溶因子を含まない fibrinogen, proactivator を含まない plasminogen を作製し, これに上記の activator を加えて, fibrin clot lysis を測定した.

このヒトの合成線溶系において, 上記 activator は, plasminogen を活性化し, fibrin 分解を示した.

3. また, plasminogen が activator に対して十分に存在している条件下では, fibrin 分解時間が activator の量により規定される, という成績をえた. したがってヒト血液において, proactivator から activator への活性化が組織 activator と共に線溶現象の律速因子となりうるであろうことが示唆された.

本論文の実験手技ならびにデータの整理, 作図その他に御協力いただいた中村順子, 松本正子の両嬢に感謝の意を表す. なお本研究の要旨は, 第29回日本血液学会総会 (於名古屋) (1967) において報告した.

## 文 献

- 1) Astrup, T. (1956) Fibrinolysis in the organism. *Blood*, **11**, 781-806
- 2) Astrup, T. & Müllertz, S. (1952) The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochem. Biophys.* **40**, 346-351
- 3) Berg, W. & Karsan-Bengtzen, K. (1963) Separation of human fibrinogen and plasminogen by means of gel filtration. *Thrombos. Diathes. haemorrh.* **9**, 151-154
- 4) Blombäck, B. & Sjöquist, J. (1960) Studies on fibrinopeptides from different species. *Acta Chem.*

- Scand. **14**, 493-495
- 5) Clifton & Downie, G. R. (1950) Variations in proteolytic activity of serum of animals including man. Proc. Soc. exp. Med. **73**, 559-562
  - 6) De Renzo, E. C. (1960) Activation of plasminogen by streptokinase. Conference on thrombolytic agents, p. 63 Chicago
  - 7) Flodin, P. & Killander, J. (1962) Fractionation of human serum proteins by gel filtration. Biochem. Biophys. Acta **63**, 403-410
  - 8) Gram, H. C. (1921) A new method for the determination of the fibrin percentage in blood and plasma. J. Biol. Chem. **49**, 279-295
  - 9) Greig, H. B. W. & Cornelius, E. M. (1960) Isolation of material with proactivator activity from human serum. Nature, **187**, 1125
  - 10) Greig, H. B. W. & Cornelius, E. M. (1962) Isolation of a proactivator from human fraction III. Biochem. Biophys. Acta **57**, 617-619
  - 11) Hummel, B. C. W., Buck, F. F. & De Renzo, E. C. (1966) Interaction of streptokinase and human plasminogen. J. Biol. Chem. **241**, 3474-3479
  - 12) Kline, D. L. & Fishman, J. B. (1961) Proactivator function of human plasmin as shown by lysin esterase assay. J. Biol. Chem. **236**, 2807-2812
  - 13) Lassen, M. (1953) Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. Acta Physiol. Scand. **27**, 373-376
  - 14) Lassen, M. (1959) The reaction between streptokinase and human plasma. Acta Chem. Scand. **13**, 1332-1346
  - 15) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. **193**, 265-275
  - 16) Marchal, G., Leroux, M. E. & Samama, M. (1962) Atlas de thrombodynamographie. Paris
  - 17) Müllertz, S. & Lassen, M. (1953) An activator system in blood indispensable for formation of plasmin by streptokinase. Proc. Soc. exp. Biol. Med. **82**, 264-268
  - 18) Norman, P. S. (1957) Studies on the plasmin system. J. exp. Med. **106**, 423-437
  - 19) Nitta, H., Sugie, I., Sato, S., Morimoto, S., Miyachi, S., Sato, K., Ito, I. & Ikai, K. (1967) Separation of fibrinolytic substances in euglobulin solution of man and dog plasma by gel filtration using Sephadex G 100 and 200. Nagoya Med. J. **13**, 23-32
  - 20) Okamoto, U., Takada, Y. & Takada, A. (1966) Plasminogen free proactivator B obtained from human plasma. Keio J. Med. **15**, 25-34
  - 21) Okamoto, U., Takada, Y. & Takada, A. (1965) Inhibitory mechanism of the trans-form of aminomethylcyclohexane carboxylic acid in fibrinolysis. Symposium on fibrinolysis in health and disease, Tokyo. in press.
  - 22) Takada, A., Takada, Y. & Okamoto, U. (1965) Influence of proactivators of plasminogen on fibrinolysis, caseinolysis and TAMe-esterolysis. *ibid.*
  - 23) Takada, A., Takada, Y. & Okamoto, U. (1964) Fractionation of plasminogen activator and proactivator in tissue and blood by gel-filtration. Keio J. Med. **13**, 187-194
  - 24) Takada, A., Takada, Y. & Okamoto, U. (1965) Gel filtration of fibrinolytic components of blood plasma in man and rabbit. Keio J. Med. **14**, 37-43
  - 25) Takada, A., Takada, Y. & Ambrus, J. (1969) Comparative study of proactivators of fibrinolysin system in three mammalian species. Thrombos. Diathes. haemorrh. **21**, -594-603
  - 26) 高田明和, 高田由美子, 岡本歌子 (1966) 第 XII 因子 (Hageman factor) の plasminogen proactivator 活性化作用. 日血会誌 **29**, 159
  - 27) 高田由美子, 高田明和, 岡本歌子 (1966) Urokinase および tissue activator の plasminogen proactivator 活性化作用. 日血会誌 **29**, 158

## 第 16 回 生 理 学 中 部 談 話 会

日 時：昭和45年10月24日 (土)

場 所：名古屋市立大学医学部基礎館第一講議室

当 番：名古屋市立大学医学部生理学教室 新田初雄，大原孝吉

### 1. 高血圧ラット心筋の ATPase およびカルシウム感受性

青木久三，池田神子，堀田 健 (名古屋市大，医，第二内科，第二生理)

心臓の外的仕事量は主として動脈圧に抗して血液を心臓から末梢循環におくり出すことであるから血圧が高ければその仕事量も増加しており，消費するエネルギーも増大している筈である。したがって高血圧心筋 ATPase 活性も正常より増大していると考えられる。このような考えから，筋原線維の ATPase 活性 (収縮)，ミクロソームの  $Ca^{++}$  結合能力と ATPase 活性 (弛緩) の測定を行なって高血圧心筋の性質の一端を明らかにしようとした。

実験材料として高血圧自然発症ラット (岡本，青木) (以下 SHR) および腎性高血圧ラット (RHR) を用い，対照は Wistar 系正常圧ラット (NR) を使用した。結果は SHR において初期に心肥大がおこり ATPase も正常に比しやや高い。しかし安定期 (生後15~25週) においては単位蛋白あたりの ATPase 活性は対照群と同じ程度 (約  $11.3 \pm 210^{-2} \mu\text{MPi}/\text{mg} \cdot \text{min}$ ) であった。40週をすぎたものでは減少がみとめられた。したがって安定期においては心臓全体の ATPase 活性は肥大分が (体重 100 g 当り約30%) 大きいことがわかる。これは RHR についても同じであった。次に心筋からえられたミクロソームの  $Ca^{++}$  結合能を SHR と NR について測定比較した。Mg, ATP 存在下でミリポア法によってえられた最大結合数は蛋白 1 mg 当り SHR 0.03  $\mu\text{mol}$ , NR 0.06  $\mu\text{mol}$  で差がみとめられたがミクロソームの ATPase には有意の差はなかった。

以上の事実から高血圧心においては初期に末梢抵抗の増加があり，それから心肥大，心筋 ATPase の増加がエネルギー増大の要求によって誘起され補われていると考えられる。ミクロソームの  $Ca^{++}$  活性に差がみとめられたことは，T システムが E・C カップリングに重要であることを考えあわせると興味が深い。今後発生の初期に焦点をおい

て研究を進めてゆく。

### 2. ラット足底汗の電解質濃度と ADH の影響 猪飼公郎，長谷川泰洋 (名古屋市大，医，第一生理)

ネムブタール麻酔を施したラット足底をミネラルオイルで掩い，単一汗腺開口部において球状をなす汗滴を毛細管で集め，total osmolarity を Ramsey & Brown の cryoscopic technique で  $10^{-9} \text{l}$  の試料について測定すると  $375 \sim 445 \text{ mOsm kg} \cdot \text{H}_2\text{O}$  で血漿よりも高く (hypertonic)，電触質濃度 (mEq/l) は Na:  $23 \sim 41$ , K:  $142 \sim 160$ , Cl:  $72 \sim 86$  であった。Na および K 濃度は Young & Schögel の法により  $10^{-9} \text{l}$  の試料について酸素と水素の混合フレイムを使用して Beckman DU 型 Flamephotometer で測定し，Cl 濃度は  $\text{Cl}^{36}$  を  $100 \mu\text{c}$  静注しておいて血液と汗の specific activity と血液の Cl 濃度とから計算した。

上記の如く，ラット足底汗は total osmolarity の hypotonic なヒトやサル足底汗とは勿論のこと，total osmolarity は hypertonic でも，high Na, low K のイヌやネコの足底汗とは著しく異なる特性を示すが，今回の実験ではラット足底汗をモデルとして ADH のエックリン発汗におよぼす効果を調査せんとした。

ADH のヒトのエックリン発汗に対する効果は報告者により区々であるが，実験動物についての観察の一つとして4群にわけた，ラット (飲水制限の有無  $\times$  pitressin 20 mU/kg B. W. の投与の有無) について血漿および足底汗の total osmolarity を比較した結果は，飲水制限 group で血漿電解質の total osmolarity の軽度上昇と，endogenous ADH の効果と考えられる total osmolarity の上昇が見られたのみで，特に pitressin の効果とは考えられなかったので，汗腺排出量における水の再吸収に対する ADH の効果の有無については，さらに pitressin 投与量を増加し，close response を観察することが必要と考えられた。

### 3. ハトの視蓋誘発波

森 滋夫 (名大, 環境医研, 第五部門)

ハトの視神経乳頭部は網膜中心部やや尾側から外側下方に細長く伸びており, それは pecten の起始部と一致する. 乳頭部周囲に刺激電極をあて対側視蓋より誘発電位を記録すると, 比較的限局して誘導され, 刺激部位と誘発部位との間に一定した対応関係を認めることができた. すでに Hamdi & Whitteridge (1954) は光刺激誘発波により, McGill et al. (1966) は組織学的にハトの網膜と視蓋との対応関係を報告しているが, 本実験により視蓋外側縁中心部の網膜上の対応点は乳頭部中心端であることを確かめた.

乳頭部電気刺激による視蓋誘発波はすでに Holden (1968) によってもみられたように, 一見単調な陰性波として記録されるが, 視索の視蓋入口付近では常に比較的よく分離した3~4個の波として記録された. これらの波につき刺激強度反応曲線, 窒息の効果, 刺激と誘導を逆にしてえた逆行性刺激による反応との対比等の観察を行なった結果, 2組の pre および postsynaptic の反応であることがわかった. 視蓋はどの部位にあっても全く同様な層状構造を成しており, また視索からの線維は視蓋に入ったのち放射状に均等に分布していると考えられているので, ここに見られた誘発波の構成は視蓋の他の部位でえられた誘発波についても適用できると思われた.

さらにこれらの波につき等刺激強度の対刺激による興奮性をみたところ, postsynaptic の成分では絶対不応期と相対不応期との間で常に supernormality を認めるが presynaptic の成分では認められないので, この supernormality の起源は synapse にあると考えられた. 絶対不応期は両成分とも 0.6~0.8 msec の間にあり, Bishop & Evans (1956) がネコの外側膝状体でみた値とほぼ一致した. Postsynaptic の成分の回復にはほぼ 300 msec を要したが, presynaptic の成分については一定した傾向を認めることができなかった.

### 4. 直接電気刺激による網膜内単位応答の観察

室賀辰夫, 御手洗玄洋, 高木貞治 (名大, 環境医研, 第五部門)

従来, 網膜の電気刺激の実験は数多くなされているが, その刺激部位がいつれであれ, 視神経

細胞は直接刺激されると考えられて来た. 近年 Byzov は表面刺激で水平細胞に誘発反応を観察されるのを認め, これは receptor を介しての transsynaptic response であるとした.

今回, 私達は遊離したコイの網膜を用いて, 神経細胞が電気刺激により直接刺激されるかどうかをみるため, 実験方法として受容器側の表面, 乳頭部および視神経の三つの刺激を行ない比較検討した. この結果, 表面刺激では両極性で誘発反応がえられるが, 5 msec 以内の短い潜時をもつ反応と, 20 msec におよぶ長い潜時をもつ反応が区別され, 同心円刺激電極の外周が陽極の時に後者の反応がえられる. 乳頭部刺激でも両極性で誘発され, axonal potential がえられる. 二つの刺激方法を区別するため視神経刺激をし latency histogram を作ると, 表面刺激の短い latency をもつ誘発反応は, 視神経の逆行性刺激によるものと同じものと考えられる. これらの潜時は 5 msec 以内に属し, 乳頭部刺激による反応も殆んど, 5 msec 以内に入るが, 一部は 20 msec 以上の潜時をもつ反応もあり, 表面刺激の一部のものと併せて transsynaptic response であると考えられる. 誘発反応 (axonal potential) の duration histogram を作ると, 殆んどすべて 20 msec 以内に入り, 0.2 msec, 0.6 msec, 1.0 msec, 1.3 msec, 2.0 msec に各々 peak を持つ, 5種類に別けられることが判った. これら五つの peak は視神経線維の種類との関係が推察される.

### 5. 網膜 S 電位の明暗順応変化について

御手洗玄洋, 高木貞治 (名大, 環境医研, 第五部門), 根岸晃六 (金沢大, 神経情報研)

網膜水平細胞起源の S 電位 (S) が錐体細胞の活動を反映することは一般に認められ, 形態学的にも両細胞間の結合が証されている. しかし特に内水平細胞の多くからは Green に高感度の, 非常に slow な S がえられることから, 桿体細胞にも結合するものがあることを筆者等は指適して来た (御手洗等 1955, 1961, 1965). これに異論がつづき (Gouras 1961, Naka & Rushton 1968), 一方 Steinberg (1969) はネコで, Loufer (1970) は海水産の魚で rod contribution を支持する結果を報告している. この時点でコイ網膜におけるその有無を再検討し, Rod 系の S が porphyropsin の色

光感性と合致するかどうかを決定すべく暗順応した遊離網膜を用い以下の結果をえた。

1. 暗順応時には膜電位 20 mV 以下で、明順応時より 3log 程度域値が低く、色光感曲線が 530 nm に頂点をもつ L 型の S がまれに記録された。

この色光感曲線は、明順応とともに 620 nm 附近にも別の頂点が出て 2 峯性となり、のち Green の感度は消失して単峯性の L 型になった。明らかに Purkinje shift である。また暗順応時の 530 nm 頂点は porphyropsin の吸収スペクトルに一致したものと考えられ、この S の rod-contribution をあらわしている。

2. 同一条件下で 500 nm 附近に頂点をもち、620 nm 附近から長波長側では過分極性の電位になる R-G 型 (MacNichol 等 1961) の S もえられるが、上記とは別の水平細胞である。

3. 530 nm 頂点の S は内水平細胞より多く記録され、R-G 型は多く外水平細胞起源であった。これらは電極先端部のリチウムカルミン法 (1961) による位置づけを基礎にした電極の深さからの推定である。

4. 主に外水平細胞からは、同一条件下に、明順応時にみられる L 型も記録はされるが、これらは、530 nm 頂点の L 型や R-G 型に比べ約 2 log 程度域値が高かった。

5. 暗順応時の S はどの型のも slow になるが 530 nm のものは特に著明で、以上よりこの S の rod contribution を再確認した。

#### 6. カエル筋紡錘からの spindle potential

伊藤文雄 (愛知学院大, 歯, 生理)

Katz (1950) は筋伸長中に筋紡錘末端から記録される脱分極電位 (spindle potential 紡錘電位) の dynamic phase の振巾が、その求心性インパルス頻度にほぼ比例して消長することを認め、その後 Ottoson 等によってこの紡錘電位を筋紡錘の発動器電位とみなされてきた。しかしパラフィン隔絶法で筋紡錘末端の電位を記録すると、紡錘電位の振巾と求心性インパルス頻度とは比例しないばかりではなく、わずかに記録条件を変化させただけで紡錘電位の位相は大きく変化した。紡錘電位の極く一部に真の発動器電位の要素が含まれている可能性を否定できないが、色々の実験から紡錘電位の大部分は artefact と考えられる。すなわち神

経の外部回路抵抗が筋伸長にともなう神経のパラフィン内での移動によって変化し、何らかの原因で (例えば負傷流) 起っている神経末端の定常電位の変動を紡錘電位として記録したものと推定した。

#### 7. M波の kinetic, tonic 成分の恢復

中山昭雄, 堀 哲郎 (名大, 医, 第一生理)

ヒトの尺骨神経を経皮刺激し、小指外転筋の筋電図を表面双極誘導する。この M 波は潜時の短い kinetic な成分と長い tonic 成分とのベクトル和であるため、しばしば複雑な波形となり、電気的振幅と機械的反応の間に必ずしも比例関係が認められない。

10~50/秒で10個の条件刺激を与え、10ミリ秒後に試験刺激を与えると、tonic 成分が抑制され純粋な kinetic 成分がえられる。この波形と正常波形からベクトル計算によって tonic 波形を描くことができるが、その振幅は数 mV にもおよぶ。Tonic 成分の恢復には 200~300 ミリ秒を要した。

Kinetic 成分は 200/秒の条件刺激 5 個以上によって抑制され、恢復するのに約 100 ミリ秒を要した。

これらの差違は主に神経・筋接合部の機能的差違によるものであろう。頻数刺激によって運動神経線維末端からの伝達物質のパルス当り放出量が增大するが、その程度は tonic 線維において大であり、線維内における伝達物質の末端への移動補給は kinetic 線維において速かであろうと推察される。

#### 8. カエル縫工筋線維にたいするピクロトキシンの収縮増強作用

竹田公久, 大村 裕 (金沢大, 医, 第二生理)

神経性痙攣剤のピクロトキシンがカエルの縫工筋線維の sarcotubular system (筋内管系) で起こるコンダクタンス上昇を抑制することをわれわれは報告したが、この変化が興奮収縮連関に影響するのではないかという考えから筋収縮にたいするピクロトキシン ( $10^{-3}$  g/ml) の効果を調べた。ピクロトキシンは筋線維に直接作用して細胞内刺激による単一筋線維の等尺性単収縮張力を増強し、長時間後には張力は 10 倍以上にもなった。また 1 回の直接刺激で数秒間も続く繰り返り収縮がしば

しばみられた。しかし拘縮や自発性収縮はみられなかった。この収縮増強作用は可逆的で、回復には10分以上を要した。筋線維束の外部刺激でみたピクロトキシンの単収縮増強作用は単一線維でみられたほど大きくなかったが、増強の結果、強縮の融合がおこる刺激頻度は減少した。しかし強縮張力は変らなかつた。長時間作用後、強縮張力の下降相に遅れがみられた。ピクロトキシンは活動電位の下降相を遅らせ、活動電位の期間を2倍弱に延長した。ピクロトキシンは電圧固定法で200 msec のパルスを用いて測定した機械的閾値には影響を与えなかつた。

本実験の結果、 $10^{-3}$  g/ml のピクロトキシンの直接筋収縮を増強することが実証された。

機械的閾値を変えず、活動電位を遅らせることからピクロトキシンはSandowのBタイプの収縮増強剤とも考えられるが、その著明な増強作用は単なる機械的有効期間の延長では説明しにくい。最初に述べた、ピクロトキシンの抑制された筋内管系のコンダクタンスが筋弛緩に関係するものであり、このコンダクタンスの抑制が収縮強増をもたらしたのではないかということが示唆される。このコンダクタンスが筋小胞体膜にあり、Caの再集を調節しているという可能性も考えられる。もしそうなら、ピクロトキシンはCaの再集を抑制することによって収縮増強、さらに繰り返し収縮を起こしたと考えられる。

### 9. Bridge voltage clamp 法によるカエル坐骨神経の電気的性質 (第3報) 無機塩類および薬物の作用

村上 徹, 帖佐勝造 (群馬大, 医, 第一生理)

Bridge voltage clamp 法については松本等が報告したが、Bridge の一辺に被験体を挿入し、これにかかる電圧を一定に保つ方法である。この方法によれば、神経束等に clamp した場合の内向きまたは外向き電流の変化を拡大して観察しうる。

今回はこの方法を用いてカエルの坐骨神経に諸種の無機塩類および薬物を作用した場合の実験結果の報告である。まず Ringer 液中で脱分極性に clamp を施した場合は急峻な内向き電流が発現し、ピークを形成して急速に減少するが、それに引続いて分極電圧の発現のためと見做される内向き電流の漸増がみられた。

神経外液を諸種の薬物に置き換えた場合には以上の急峻な内向き電流は KCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, HgCl<sub>2</sub>, DDT, cholin, strychnine, veratrin, TTX 等で時間経過と共に次第に小さくなり消失し、NaCl, NaSCN では増大した。尚 BaCl<sub>2</sub> ではピークが小さくなると共に周期性興奮と思われる内向き電流の増減が観察された。

TEA では分極電流に見られる内向き電流の漸増経過が著しく、興奮のピークが高平部になるが如き経過を呈した。次に過分極性に clamp を施した場合には、まず分極電圧の発現と見做すべき外向き電流の急激な減少および内向き電流の増大が認められた。外液を KCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, DDT, cholin, TTX 等に置き換えると clamp 中断後の spike は次第に小さくなり消失したが、clamp 中の内外き電流の経過には、わずかながら一過性の減少が認められる等複雑な結果がえられた。

以上の結果から、脱分極性に clamp した場合には、内向き電流の発現に引続いて外向き電流の増大が見られた等と報告している Hodgkin 等の実験結果とは相当異なる点が多かった。

### 10. 人体皮膚の等価回路について。附 皮膚を介して導出導入する電流変形

白田小夜子 (群馬大, 医, 第一生理)

人体皮膚の電気的性質については古くは朴沢、次いで若林による弱い電流を用いての実験報告等があり、その等価回路についても種々推定されている。松本等は最近神経、筋等の等価回路を実験的に決定しうる方法を報告したが演者はこの方法を用いて人体皮膚の種々の部位の等価回路を定めたのでこれを報告する。

電極としては広い面積の純銀板を大量の Ringer 液中に浸し被験者の左手 (殆ど全体) をこの中に入れて無関電極とし、他方の電極は直径 2 cm の円形の純銀板を予め、アルコールおよび生理的食塩水等を用いて清浄にしておいた皮膚の表面に直接当て上からゴム帯で押え、これらの端子を測定回路 (bridge の変形) に連結した。この際被験者は大地から絶縁しその他 stray capacity が小さいように注意した。被験部位としては手首、腕、足等計 5 カ所を選んだ。

実験結果を要約すれば電気容量 (C)  $0.02 \mu\text{F}/\text{cm}^2$

と抵抗 (Rb) 30 kΩ/cm<sup>2</sup> が並列, それに抵抗 (Ra) 500 Ω が直列に連結されたものとなった (電気容量, 抵抗の値はいずれも大約).

これら Ra の値は皮膚の表面積に殆ど関係なく, 無関電極と測定電極間の人体における距離が大きい場合は大, 小さい場合は小となったので人体の抵抗と看做すことができる. C および Rb の値は皮膚の部位によって差があり, 男女の別あるいは年齢によっても一定の差があることが知られた.

### 11. 網膜 S 電位の起源細胞のリチウム・カルミンによる一染色法

根岸晃六 (金沢大, 医, 神経情報研)

リチウム・カルミン (20% 溶液) を含むガラス微小電極を使用し, *Mugil brasiliensis* (ボラ), *Eugerres plumieri* (クロサギ) および *Centropomus undecimalis* (スズキ) の 3 種の海産魚について, 網膜 S 電位の起源を水平細胞にマークすることができた. この染色法は適当な空気圧を電極内液に加えることにより, 電極先端より染色液微量を, S 電位を記録している単一細胞内へ押し出すよう工夫した新法である. この方法を用いて, 異なる色光反応曲線を示す S 電位の起源を, これらの魚で 4 層構造をなしている水平細胞のそれぞれに求めることができた. つまり *Mugil* の網膜では, L<sub>2</sub> 型 (ほぼ 550 nm に峯) は外水平細胞 (He) に, C<sub>2</sub> 型 (短波長帯で脱分極, 長波長帯で過分極) は中水平細胞 (Hm) に, C<sub>1</sub> 型 (C<sub>2</sub> 型と逆, 鏡像型を呈す) は内水平細胞 (Hi) に, L<sub>1</sub> 型 (ほぼ 470 nm に峯) はさらに神経節細胞側に位する桿体水平細胞 (Hr) にそれぞれ起源を求めたが, *Eugerres* と *Centropomus* では He と Hm は L<sub>2</sub> または L<sub>3</sub> 型 (ほぼ 610 nm に峯) を, Hi は C<sub>1</sub> 型を発生することが確かめられた. しかし, 後 2 者の魚の間では桿体水平細胞層の位置が構造的に異なるのであるが, その細胞がどのような L 型を出しているのか明らかにしえなかった. キンギョの網膜では 2 層構造の水平細胞が不規則な配列で L および C<sub>1</sub> 型 S 電位を発生しているという知見 (Kaneko, 1970) を考え合せると, ここで述べた実験結果は, 異なる魚種で水平細胞が構造的にも, 機能的にも異なることを示唆している (附; この実験は著者がベネズエラ科学研究所で G. Svaetichin 博士と V.

Parthe 氏とともに 1969 年の暮れに行なったものである).

### 12. 血圧振動時の中心静脈圧について

望月峻成, 宮川 清 (信州大, 医, 第二生理)

血圧振動は, 神経系による循環系統合の一つの極限を示すものと考えられている.

本実験は, この統合を末梢循環系のシステムの中で明らかにしようとした一連の実験の一つである. カイウサギを使い, 中心静脈圧はポリエチレンカテーテルを右外頸静脈より右心房直前まで挿入し, 低圧用トランスデューサーを用いて, プレチスモグラフに記録した. 血圧は大腿動脈より記録した. 血圧振動は側圧負荷実験法で引起した.

まず, 閉胸下でみると, 側圧負荷によって, 血圧水準が上昇し, ほぼ一定の周期, 波高の血圧振動が出現するとき, 中心静脈圧も水準が上昇し, 同じ周期の波が出現した. この波と血圧の波の位相のずれは, ばらつきが大きかったが, 平均は, 13.4° でほぼ同位相といえた. この波の波高は平均 11 mm H<sub>2</sub>O であった.

次に, 中心静脈圧の変化を transmural pressure としてみる為に, 開胸して, 心嚢膜を破って, 測定した. その結果, 全例で, 血圧振動発現時に, 中心静脈圧の水準が低下し, 血圧振動の波との位相のずれが, 平均 192° の波, すなわち逆位相の波になった. この波の波高は, 平均 2.0 mm H<sub>2</sub>O で, 血圧振動の波高との間には, 高度な相関関係を示した.

これより, 閉胸時の変化は, 呼吸水準の変動に伴う胸腔内圧の変化によるものと考えられた. また, 呼吸瓶法による呼吸の記録により, 閉胸時の中心静脈圧の変動が呼吸水準の変化と一致することが示された.

開胸時の変化から, transmural pressure としての中心静脈圧は, 血圧振動と逆位相で振動し, 波高が, 血圧の波高と相関関係を示すことから, 血圧振動には, 末梢抵抗の増減が, capacitance より優勢に関与していることが明らかであった. また, この中心静脈圧の低下が, 清水により明らかにされている心拍出量の減少の一因にはなっていると考えられた.

### 13. 激しい運動における酸素摂取量と肺拡散能

### および心拍出量の関係について

宮村実晴 (金沢大, 医, 第一生理)

運動中の  $O_2$  transport capacity を決定する因子として, Holmgren は dimentional factor と functional factor の二つをあげている. これらの要因の中でも肺拡散能 ( $D_L$ ) と毎分心拍出量 ( $\dot{Q}_t$ ) が酸素摂取量 ( $\dot{V}_{O_2}$ ) の重要な要因であると考えられる. 本実験では, 健康な成人男子 (20~30才) 6名について Strenuous work における  $\dot{V}_{O_2}$ ,  $D_{LCO}$ ,  $\dot{Q}_t$  を測定し, これらがいかなる関係を有するかを明らかにしようとした.

運動は自転車エルゴメーターを用い, 回転速度は 60 r. p. m. とし, 各被検者が 5~8 分で all-out になる負荷で運動を行なわせた. 運動中の心拍数 (HR) と呼吸数 (f) は連続的に記録し,  $\dot{V}_{O_2}$  は Douglas bag 法を用いて測定した. また  $D_{LCO}$  は Filley 等の Steady state 法,  $\dot{Q}_t$  は  $CO_2$  法を用いて測定した.

運動開始と同時に 2 分目まで  $\dot{V}_{O_2}$ ,  $\dot{V}_E$ , f,  $\dot{Q}_t$ , HR は急激に増加し, その後 all-out に至るまで徐々に増加した.  $D_{LCO}$  と 1 回拍出量 (SV) の増加傾向は類似し, 1~2 分目まで増加したが, その後はほぼ一定であった. そして,  $D_{LCO}$  と SV の相関は  $r=0.704$  ( $p<0.001$ ) であった. また換気-血流比 ( $\dot{V}_A/\dot{Q}_t$ ) は安静時平均 1.1 から all-out 時 4.5 と増加した.

$\dot{V}_{O_2}$  からみて  $D_{LCO}$  の方が  $\dot{Q}_t$  よりも先に plateau に達した. すなわち,  $D_{LCO}$  は  $\dot{V}_{O_2}$  1.0~1.5 l/min でほぼ一定に達した. そして  $D_{LCO}$  と  $\dot{V}_{O_2}$  の相関は  $r=0.770$  ( $p<0.001$ ) であった. また  $\dot{V}_{O_2}$  は  $\dot{Q}_t$  と共に増加しその相関は  $r=0.952$  ( $p<0.001$ ) で, 各々有意の相関が認められた.

以上の結果から, Strenuous work における  $\dot{V}_{O_2}$  の増加は,  $D_L$  と  $\dot{Q}_t$  と密接な関係を有し, さらに  $D_L$  が一定に達した後における  $\dot{V}_{O_2}$  の増加は,  $\dot{Q}_t$  および  $\dot{V}_A/\dot{Q}_t$  の増加によるものと思われる.

### 14. イソアワモチシナプスにおける長時間抑制のイオン機構について.

沢田正史, 大村 裕, 大山 浩 (金沢大, 医, 第二生理)

イソアワモチ食道神経節中の同定された一つのニューロン (アセチルコリン投与で過分極をきた

す. H ニューロン) が posterior pleural nerve (PPN) の刺激にたいして 10 数 mV 過分極し, 数 10 秒から数分間におよぶ長時間抑制 inhibition of long duration (ILD) をおこすことがみられた.

1. この ILD には  $10^{-3}$  g/ml d-TC やアトロピンは無効で, non-cholinergic シナプスと考えられる. この ILD 出現中は膜コンダクタンス上昇があること,  $-62$  mV に逆転電位をもつこと, ウェバインの無効果などからこの ILD はイオン透過性増大によるものであり electrogenic cation pump のメカニズムは混在していないことがわかった.

2. イオン置換実験からこの ILD は外液 K イオン濃度に依存しており, K イオン濃度 10 倍の変化に対し 52 mV の勾配を示して変化した. また外液 Cl イオンをすべて acetate イオンで置換した無 Cl 海水中でも ILD は出現し, 昆虫筋のシナプスで GABA による Cl コンダクタンス上昇を抑制するとされているピクロトキシンもこの ILD にたいして無効であった. これらの結果より, この ILD は non-cholinergic action による K イオン透過性上昇によるものであり, Cl イオンは関係ないことが判明した.

3.  $10^{-3}$  g/ml のドーパミンの投与で同程度の過分極と膜コンダクタンスの上昇が生じた. 無 Cl 海水中でもドーパミン投与による過分極と膜コンダクタンス上昇は起こった.

4. PPN 刺激にたいする ILD とドーパミンによる過分極の同一性はドーパミン投与後の脱感作をうけた状態では PPN 刺激による ILD が消失したことで説明できる.

5. 以上の結果からこの ILD はドーパミンによる K イオン透過性上昇によって引き起こされることが明らかとなった.

### 15. 飲水の中樞性調節について

大村 裕, 小野武年, 杉森睦之, 中村 勉 (金沢大, 医, 第二生理)

飲水の調節について, 飲水促進中枢は視床下部外側野 (LH) の脳弓背外側部のあたりに存在するという証拠が種々報告されている. しかし抑制中枢についてはほとんど証拠がない. われわれは最近視床下部の腹内側核 (VMH) 付近の破壊実験で VMH およびその付近が飲水の抑制に関与してい

ると思われる証拠をえた。

まずラットを用いて VMH の両側性破壊や、VMH と LH の中間部に片側慢性的に内径 0.4 mm のカニューレを挿入した。そして種々の薬品の投与を行ない、水と 1% NaCl 水の摂取的摂取量を比較しそれぞれの飲水におよぼす影響を検討した。投与する薬品としてアセチルコリン (ACh)、蔗糖、および NaCl を結晶のままカニューレより投与した。

VMH 破壊では、水の摂取量の増加とともに NaCl 水の摂取量が増加した。また NaCl および蔗糖投与群では水の摂取量が増加したが NaCl 水摂取にたいしては変化がなかった。ACh 投与は無効であった。これらの結果は、視床下部の浸透圧感受性ニューロンおよび Na 感受性ニューロンの存在を暗示している。LH の浸透圧感受性ニューロンについては 5 連微小電極によりその存在を支持する証拠がえられた。われわれは目下 5 連微小電極により Na 感受性ニューロンを検索中である。

#### 16. 飽満中枢の抗原特異性

大村 裕, 小野武年, 杉森陸之, 中村 勉 (金沢大, 医, 第二生理)

神経系において免疫学的に部位特異性が存在し、特定の神経構造はその部位に対してつくられた特異抗原だけを認識するのではないかということが最近尾状核 (CD) において言われている。しかしそのニューロンレベルでの証明はまだない。一方の視床下部飽満中枢である腹内側核 (VMH) ニューロン中には化学受容器としてのグルコース感受性ニューロンが存在する。この化学受容ニューロン膜は抗原として特異性をもつと考えられる。

まず抗原としてラット VMH と CD を用い、それぞれに対する抗体をウサギを用いて作った。ついで試験管内でそれぞれの抗原特異性を検討した。つぎに 5 連微小電極法によりそれぞれの部位および摂食中枢 (LH) の単一ニューロン活動を記録しながら、VMH 抗血清 (VMH 抗体)、CD 抗血清 (CD 抗体) および正常カノウサギ血清をニューロンに直接微小投与してその抗原特異性をしらべた。VMH については、VMH 抗体で放電が特異的に抑制され、CD 抗体および正常カノウサ

ギ血清では変化しなかった。LH ニューロンでは正常血清とも無効であった。ごく新鮮な VMH 抗体を作用させた場合、放電頻度が一過性に増加後、下可逆的に消失するものが多かった。抗体保存中、これは新鮮な抗体中にはまだ補体活性状態にあったためであろう。CD の単位放電についても CD 抗体の特異的作用が認められた。VMH のグルコース受容ニューロンについての VMH 抗体の作用を検討中である。

#### 17. 塩酸サイプロヘプタジンの作用機序

大村 裕, 小野武年, 杉森陸之, 中村 勉 (金沢大, 医, 第二生理)

抗セロトニンおよび抗ヒスタミン作用をもつ塩酸サイプロヘプタジン (Cyp) が臨床上に食欲亢進を起し、摂食量、体重および身長を増加をきたすことが知られている。この機序には視床下部領域が関与しているのではないかといわれているが不明である。

そこでラットを用いて 5 連微小電極法により視床下部摂食中枢 (LH) および飽満中枢 (VMH) ニューロンに Cyp を直接微小投与してニューロン活動にたいする影響をしらべた。また両中枢のグルコース感受性ニューロンにたいしてもこの効果をしらべた。

まず  $^{14}\text{C}$ -Cyp でしらべた電気浸透圧的放出は約  $3.3 \times 10^{-12} \text{ M/l/}10^{-6} \text{ coul}$  であった。Cyp は LH ニューロンには促進的に VMH ニューロンにたいしては抑制的に作用することが判明した。ニューロンに対する最小有効濃度は  $6.4 \times 10^{-6} \text{ M/l}$  であった。VMH での Cyp 感受性ニューロンへのグルコース投与では逆に促進され、LH のそれはグルコースで抑制された。Cyp 感受性ニューロンは Na や Cl の投与によって反応をまさないので浸透圧上昇とか電流的作用ではなくニューロン膜に対する特異的作用である。また対照の視床ニューロンには無効であった。扁桃核基底核の外側部と分界条の刺激により、Cyp 感受性ニューロンは特異的に VMH で促進され LH では抑制された。

一方慢性実験で Cyp を経口投与すると摂食量および体重増加に著明な増加をきたし、しかも LH 機能亢進状態を示した。

以上のことから Cyp は視床下部領域における摂食機構に直接作用すると結論する。

### 18. 視床下部腹内側核に対する扁桃核の促進機構

小野武年, 大村 裕, 杉森隆之, 中村 勉 (金沢大, 医, 第二生理)

食欲の調節には視床下部外側野 (LH, 摂食中枢), および腹内側核 (VMH, 飽満中枢) が関与し, しかも両中枢とも扁桃核と, 解剖学的, 生理学的に密接に関係している。解剖学的には扁桃核から視床下部への経路として ventral amygdalofugal pathway (VAF) と shia terminalis (ST) があげられている。一般に扁桃核は LH には抑制的に VMH には促進的に作用することが報告されている。しかし扁桃核基底核外側部 (AL) の刺激は LH に EPSP とそれに続く IPSP をおこし, その経路として前者は VAF, 後者は ST を経由している。一方 VMH には扁桃核の皮質内側核群から ST を介して抑制を, AL から VAF を介して促進と抑制を受けることが報告されている。今回はラットで AL, ST および VMH に同心双極電極を刺入し, 刺激, 誘発電位の記録に用い, 誘発電位の記録の際には内針だけをを用いて単極誘導を行なった。VMH には同時にガラス微小電極も刺入し, 単位放電および誘発電位を記録した。こうして AL 刺激の VMH へおよびその効果とその経路を検討した。

AL の単発刺激を行なうと VMH で低閾値で約 3.7 msec の潜時の陰性 (N) 波とそれに続く高閾値の陽性 (P) 波がえられた。加重, post tetanic potentiation, 単位放電その他の分析より前者は AL から VMH への単シナプス経路での EPSP の成分と考えられ, 後者は VAF を介する IPSP と推定された。また ST では三つの成分からなる N 波がえられ, それぞれ潜時は約 10 msec, 24.5 msec, 40 msec であり多シナプス経路が推定された。一方 ST の単発刺激では VMH に 2.5 msec の潜時の N 波と, AL 刺激による P 波より高い閾値の P<sub>1</sub> 波がえられこれらは ST を介する IPSP によるものと推定され AL によるそれとは区別された。さらに AL の条件刺激群刺激, などを行ない ST の VMH へのシナプス経路を検討したところ, ST が多シナプスを介して VMH に対して disinhibition による促進効果をもつことが判明した。この結果, AL は単シナプスを介して VMH に促進的に, ST を介して多シナプ斯的に促進と抑制の効

果を持つことがわかる。

### 19. 網膜と視床下部との直接線維連絡について

小林宣泰, 大村 裕 (金沢大, 医, 第二生理)

従来から光と視床下部機能間の関連が強調されているが, この解剖学的根拠である網膜から視床下部にいたる直接線維の存在については賛否両論がある。これに関してわれわれはネコで以下の結果をえた。

1. 一側眼球摘出後 3~5 日目の 3 例で変性線維鍍銀法の一つである Fink-Heimer 法を使用した結果, 視床下部内に両側性の変性がみられた。部位は腹内側核, 室旁核の背方および視索前野である。視索上核, 外側野および弓状核には変性はみられなかった。

2. この鍍銀法が神経分泌物質を染色している可能性もあるので, aldehyde-fuchsin あるいは aldehyde-thionin により同一脳切片で神経分泌染色をおこなった。しかし上記の変性は, 神経分泌系 (とくに室旁核下垂体路) とはまったく別の分布をしめすことが判明した。

3. 一側眼硝子体腔にトリチウムラベルのロイシン (L-4, 5-<sup>3</sup>H-leucine) 注射の 5 例のネコにおいて, 20~30 日後の脳切片にオートラジオグラフィをおこなった。ロイシンは軸索流動によって神経終末にあらわれると考えられる。この結果, 腹内側核と室旁核背方では細胞体周辺に, 一方視交叉上核にはびまん性の放射能活性がみとめられた。

4. 一眼摘出後 10 日目脳に対する Nauta-Gygax 鍍銀法で, 視交叉上核内に変性線維が認められた。これはオートラジオグラフィでの結果と一致する。これから視神経線維は視交叉レベルで視床下部に進入するのではないかと考えられる。

以上の結果から網膜視床下部間に直接線維連絡があると考えられる。

5. 一眼摘出後 10 日目の 2 例において Fink-Heimer 法で, 分界条の commissural component にそった変性がみとめられた。これは視神経と辺縁系間にも直接連絡のあることを示唆している。

### 20. 咀嚼および嚥下の神経機序における大脳皮質と橋網様体の協調について

角 忠明 (信州大, 医, 第一生理)

1. 浅いエーテル麻酔を施したらウサギの橋網様体に頻数電気刺激 (0.2 msec, 50/sec, 30 sec) をあたえると律動性の嚥下, 咀嚼および唾液分泌がおこる。

2. 上述の反応は大脳皮質前頭領の部分的剔除, GABA, キシロカインあるいは局所-冷却の適用によって著明に減弱する。

3. 橋網様体の刺激に重畳して大脳皮質あるいは上喉頭神経の刺激を行なう嚥下反応は著しく増強する。

4. 上述の橋網様体は上オリブ核の背外側に位置し, 主として小型の神経細胞を含む。また, この領域の限局的破壊によって上喉頭神経刺激による反射性嚥下の発現は影響されない。

5. 嚥下, 咀嚼および唾液分泌を惹起する大脳前頭領の皮質細胞は上述橋網様体と種々な典型的機能的連絡を有し, 186 例について測定した平均最短伝導時間は約 10.5 msec である。

6. 上述の諸結果から, 橋網様体と大脳皮質および“嚥下中枢”, “咀嚼中枢”あるいは“唾液分泌中枢”の緊密な相関協調によって各機官の調節が行なわれていると推論する。

21. 睡眠の生理学よりみた歯ぎしり

佐藤豊彦, 原田善郎 (愛知学院大, 歯, 生理)

睡眠中の歯ぎしりの中枢神経機序を探る目的で, 歯軋常習者を用い, 脳波, 頰部筋々電図, 歯軋音, 心拍数, 指尖脈波, 皮膚抵抗値, 自発性皮膚電位等を終夜睡眠中連続的に記録した。

歯軋は睡眠のどの相にでも起こりうるが, 深い睡眠時には比較的少なく, 深度Ⅱ度あるいはⅠ度の比較的浅い睡眠時に多く, 必ず大なり小なりの睡眠深度の浅化を伴う。脳波上の自発性 K-complex に続いて発現する場合は約 1/3 の例において認められ, 何らかの形で  $\alpha$  波を伴う場合が半数近くの例で認められた。覚醒直後には波が持続するパターンにも拘らず歯軋が発現することもあった。歯軋発現に際しては, 心拍増加, 皮膚末梢血管収縮は必発現象であり, しばしば一般体表面上の汗腺活動を伴い, 稀には手掌の発汗が発現することがあった。逆説睡眠中の歯軋は散発性で, 脳波の周波数分析は  $\alpha$  帯域の増強を示した。また覚醒閾値が高く,  $\alpha$  帯域の減弱する, 急速眼球運動群発時には歯軋は発現しなかった, 徐波睡眠中

に, 音刺激を与え, 睡眠深度を急激に浅化させることにより歯軋を誘発できることがあった。

以上より, 歯軋は覚醒反応の一種であろうと考えられる。したがって, 歯軋の発現にとっては, 大脳の活動水準がある程度高い必要があるが, 完全に覚醒して下うと抑制系が作動し始めるので, 運動系は回復しているが, 調節抑制系の機能の回復が不充分であるような, 微妙な条件が揃うことが必要と考えられる。この仮説を, カテコールアミン作動性の大脳賦活系と対比して考察した。

22. 毛細管沔過一再吸収の平衡について

東 健彦 (信州大, 医, 第一生理)

岡の理論によれば, 透過性を有する円筒管内を流れる液体の管軸に垂直な速度成分は,

$$v = k \cdot \Delta P (2\zeta - \zeta^3) \left( \frac{\Delta\alpha}{\Delta P} - \xi \right) \dots\dots\dots(1)$$

で示される。ただし,  $\zeta = r/R$ ,  $\xi = z/L$ ,  $\Delta P = P_a - P_v$ ,  $\Delta\alpha = P_a - \alpha$ ,  $\alpha = P_{if} + (\pi_c - \pi_{if})$ ,  $R$ : 管半径,  $L$ : 管長,  $P_a$ : 細動脈圧,  $P_v$ : 細静脈圧,  $P_{if}$ : 組織圧,  $\pi_c$ : 血漿膠質浸透圧,  $\pi_{if}$ : 組織液膠質浸透圧,  $k$ : 沔過定数 ( $T \cdot L^2 \cdot M^{-1}$ ) である。沔過速度を  $Q_L (L^3/T)$  とすると,

$$\begin{aligned} Q_L &= \int_0^L 2\pi R \cdot v_{r=R} \cdot dz \\ &= kS \left( \frac{\Delta\alpha}{\Delta P} - \frac{1}{2} \right) \\ &= kS \left( \frac{P_a + P_v}{2} - \alpha \right) \dots\dots\dots(2) \end{aligned}$$

$S$  は毛細管の全表面積である。一方 Starling の法則は普通次のようにあらわされる。

$$Q_L = kA (P_c - \alpha) \dots\dots\dots(3)$$

$A$  は沔過にあずかる表面積,  $P_c$  は毛細管圧をあらわす。(3) 式を毛細管全体に適用しようとするとき,  $A = S$  となるが,  $P_c$  は本来毛細管内の部位によってことなるものであるから, この式から沔過 (または再吸収) 量を求めることはできない。これに反し, (2) 式では毛細管全体としての沔過の駆動圧が,  $(P_a + P_v)/2$  との  $\alpha$  差として与えられており, いわば毛細管全体についての Starling の法則を明確な形で示したものといえよう。

(2) 式によってこのように毛細管圧の集中定数化がおこなわれたので, Pappenheimer-Sato Rivera の式,

$$\bar{P}_c = \frac{qP_A + P_V}{1+q} \dots\dots\dots(4)$$

と(2)式をむすびつけることができる。 $(\bar{P}_o$ :平均毛細管圧,  $q$ : postcapillary resistance/precapillary resistance,  $P_A$ : 動脈圧,  $P_V$ : 静脈圧) すなわち,

$$Q_L = kS \left[ \frac{qP_A + P_V}{1+q} - \alpha \right] \dots\dots\dots(5)$$

(5)式から, リンパ流を無視すれば, 定常状態においては

$$q = \frac{\alpha - P_V}{P_A - \alpha}$$

となることがわかる。(4), (5)式は今後河過の問題を考える上に有用であろうと思われる。

23. カエル皮膚電子計算機シミュレーションによる膜透過係数の算出

井上 章, 品川嘉也, 品川泰子, 岡本純子 (京大, 医, 第二生理)

われわれは両棲類皮膚の微細構造と皮電位の関係の比較生理学的研究を行ってきた<sup>1)</sup>が, その過程で Goldman 式で求めた透過係数が負の値を示すことがあることを指摘した。負の透過係数は Hodgkin らおよび Tasaki らの巨大神経線維の測定値からもえられる<sup>2)</sup>。これは Goldman 式が能動輸送をあらたに考慮していないために起こる欠陥と考へて, 能動輸送電流を考慮した拡張式を提案した<sup>2)</sup>。

今回は電荷を持たない carrier の flux をも考慮して, carrier mediate active transport にも適用できる式として

$$AE = \frac{RT}{zF} \ln \frac{P_{Na}C_{Na}^o + P_KC_K^o + P_{Cl}C_{Cl}^o - \Phi}{P_{Na}C_{Na}^i + P_KC_K^i + P_{Cl}C_{Cl}^i - \Phi - \varphi} \quad (1)$$

を考へカエル皮電位の測定値に適用し良好なシミュレーションをえたので報告する。

計算は京大大型計算機センターFACOM230-60を使用し, 自乗誤差を最小にするようにパラメータ値を求めた。理論は不可逆過程の熱力学<sup>3)</sup>により現象論的方程式から(1)式を誘導した。透過係数の意味は

$$P_o = \sum \frac{z_i^2 D_i}{R} \dots\dots\dots(2)$$

となり, そのイオンの mobility と対イオンとの相互作用係数の和に比例した量となる。

カエル皮電位は  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Li^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Cs^+$ ,  $NH_4^+$ ,

$Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $SCN^-$ ,  $NO_3^-$ , および  $SO_4^{--}$  について測定し各  $p_{ke}$  を求めた。

$$P_{Na} = p_{NaNa} + p_{NaCl} = 9.547 + 0.162$$

$$P_K = p_{KK} + p_{KCl} = 1.680 - 0.680$$

$$P_{Cl} = p_{ClCl} + p_{NaCl} + p_{KCl} = 8.372 + 0.162 - 0.680$$

等々の結果がえられる。

- 1) 井上 章, 品川嘉也編 (1969)「能動輸送」, 南江堂
- 2) 品川嘉也 (1968)生物々理 8, 247

24. スポーツ用具と体力との関係に関する一知見

伊藤秀三郎 (早大, 教育, 体育)

人間, 土地・用具および規則は, スポーツの3要素で, 第1の人間は, 審判員を含めたスポーツ実行者, 第3の規則は, スポーツを行なう為の約束である。然して, いずれも相当に研究がつまれている。

所が, 第2の土地・用具の中土地については, スポーツに適するか, 否かで決まるが用具の方は一応規約はあるにしても, 各人に対する基準がない場合の方が多くに思われる。

そこで用具にはテニスのラケットを, 被験者には, 硬式テニス歴3年以上の年令20~26才の男子30名を選んだ。

調査事項は身長, 体重, 握力, ラケットの重量, ラケットのグリップの太さ, 年令およびテニス歴である。

先ず第一に, グリップの太さと身長, 体重および握力それぞれとの相関係数を求めたが, -0.47, -0.80および-0.47となり, グリップの太さは, 一番体重と密接な関係があると思つた。

次に, 体力評価を決めるため, 身長, 体重および握力それぞれを5段階にわけ, 上位5点, 下位を1点とし, 合計点で体力を評価することにした。

いま, その基準を列挙すると次の如くである。身長 (cm) 174以上, 168~174, 162~168, 156~162および156以下, 体重 (kg) 65以上, 59~65, 53~59, 47~53, 47以下, 握力 (kg) 57以上, 50~57, 43~50, 36~43, 36以下この基準にしたがい被験者の体力を考えると, 最高は14で, 最低は7である。

そこで、ラケットの重量と身長および体力との相関係数を求めた所、前者は 0.38 で、後者は 0.56 である。

斯くて、スポーツ用具選定の際、体力等の点も考慮すべきではなからうかと思つた。

(実験担当者 白砂賢治)

## 25. サルの温熱性、代謝性反応の観察記録法

中山昭雄, 堀 哲郎, 只木英子 (名大, 医, 第一生理), 永坂鉄夫 (名大, 環境医研), 登倉尋実 (京大, 霊長類研)

一般に生体における体熱平衡は外部へなす仕事かほとんど無視でき、食物、水の摂取、糞尿の排泄がなければ、次式で表わすことができる。

$M = E \pm R \pm C \pm K \pm S$  (単位 kcal/hr) (1)  $M$  は産熱量,  $S$  は蓄熱量であり,  $E$  は蒸発,  $R$  は輻射,  $C$  は対流,  $K$  は伝導によってそれぞれ失なわれる熱量を示す。このうち,  $M \cdot E \cdot S$  の三つを測定すると、計算によりさらに多くの生理的諸数値がえられる。

モンキーチェアに固定したサルを各種温度環境に暴露する。10分毎に皮膚温 (8カ所), 直腸温 ( $T_{re}$ ), 環境温 ( $T_a$ ) を予め装着した銅コンスタンタン熱電対を用い 0.1°C の精度で記録し, 8カ所の平均皮膚温 ( $\bar{T}_s$ ), 平均体温 ( $\bar{T}_d = 0.65 \bar{T}_{re} + 0.35 T_s$ ) を算出する。  $S$  は  $0.83 \cdot \text{体重} \cdot dT_a/dt$  で求められる。酸素消費量測定は20分毎に開放式で行なう。換気フードをサルの頭部にかぶせ、呼吸を逃さぬよう空気ポンプで吸引換気し、乾式ガスメーターを介してダグラスバッグに約5分間集める Scholander 装置または Pauling の酸素分析器でガス分析し,  $O_2$  消費量,  $CO_2$  産出量,  $RQ$  を求め,  $M$  を計算する。一方, ガスを塩化カルシウムのU字管に通し水分吸収後, 秤量によりキャリアガス水分量との差を求め, 呼吸気道よりの放熱 ( $E_{ex}$ ) を算出する。また全蒸発熱 ( $E$ ) は体重減少から求められる。Dry heat loss は (1) 式より  $M - E \pm S$  で求められる。また血管反応の指標となる熱コンダクタンスは  $(M - E_{ex} \pm S) / \{A(T_{re} - \bar{T}_s)\}$ , 冷却恒数も  $(M - E_{ex} \pm S) / \{A(\bar{T}_s - T_a)\}$  で算出できる。  
( $A$  は体表面積)

これらの方法は野外実験も可能であり、気候馴化、生態学的研究にも応用できる。

## 26. The superposition of renewal processes

伊藤嘉房 (名大, 医, 第二生理)

例えば spindle afferent 末端において conductive spike (cs) が発生したあと次の cs が発生する迄の間の abortive spike (as) train は同時にスタートした独立な renewal process の重量とみなされうる。ここではその重量を観察して重量された process の数を知る事を問題とする。

一般に renewal process はいわゆる probability density function (pdf)  $F(t)$  によって完全に決定されるが、これは conditional probability (cp)  $p(t)$  と  $p(t) = F(t) \int_t^\infty F(t) dt$  または  $F(t) = p(t) e^{-\int_0^t p(t) dt}$  によってお互いに結びついている。cs が発生したあと次の spike が発生する迄の interval を  $I_1$ , もしその spike が as であればその次の interval を  $I_2 \dots$  以下 cs が発生する迄の各 interval を  $I_3 \dots I_n$  とするとそれらは確率変数である。  $I_1$  の probability density を  $\underline{F}(t)$ , 対応する cp を  $\underline{p}(t)$  とする。いま、問題としている as train が  $n$  個の均等な renewal process の重量とすれば各 process は  $\underline{p}(t) = p(t)/n$  なる cp をもつ。  $\underline{p}(t)$  に対応する pdf を  $\underline{F}(t)$ , さらに  $G(t) = e^{-\int_0^t \underline{p}(t) dt}$  と定義すると、仮定 [分岐数 =  $n$ ] のもとでの  $I_m$  の理論的期待値は

$$E_n(I_m) = \int_0^\infty \sum_{\substack{m_k = m-1 \\ m_k > 0}}^n F_{m_k} * G(t) dt$$

となる。  $I_m$  の実験的平均値を  $E_{exp}(I_m)$  とすれば、等式  $E_n(I_m) = E_{exp}(I_m)$  から  $n$  が求まる。この方法は  $\underline{F}(t)$  と  $E_{exp}(I_m)$  がえられれば直ちに  $n$  が求まるので実用上有用である。

以上  $\underline{F}(t)$  を連続分布として各式を表現したが、それは記述を簡単化するためで、 $\underline{F}(t)$  が離散分布であっても各式が多少の変形を受ける以外は全く同様である。したがって  $I_m$  の集積をそのまま  $\underline{F}(t)$  としてコンピューターに投入可能である。

## 27. ウシ眼球におけるカリクレイン様物質、カリクレイン阻害物質、およびキニナーゼの研究

榊村純生, 近藤導弘 (三重大, 医, 第一生理)

最近、病態生理の立場から活性 amine 活性 polypeptide および proteinase 類等は炎症時の病

の血管透過性亢進に関与し、その chemical mediator として注目され、特に火傷局所の水泡形成および関節炎等では kinin (K) 遊離の増加が著しいといわれている。演者らは渗出および浮腫を来す眼疾患で (K) 遊離系に興味を持ち、予備実験として正常ウシ眼の該遊離系について検討した。

方法として、1) kinin 遊離酵素 (KRE) の調製：角膜 (C), 前房水 (H), 虹彩 (I), 水晶体 (L), 硝子体 (V), 脈絡膜 (Ch), および網膜 (R) を分離し、各々に燐酸緩衝液 (pH 7.0~7.4) と DOC を加えて homogenize し、その遠心分離によってえられた上清を低温 (0~4°C) 下で24時間透析した。最後に該上清をガラス接触で処理し (KRE) て試料とした。2) 基質 (S) の調製：カイウサギ酸処理血漿 (pH 2.0) を透析し、その上清を (S) とした。

3) (K) 遊離活性：(KRE) と (S) を incubate (37°C 4 分間) し、その際遊離される (K) 量を guinea-pig の回腸片収縮で測定することによりえた。

4) (KRE) 中に含まれる kininase (Kn) および kallikrein inhibitor (Ki) : (Kn) に関しては (KRE) と standard bradykinin (Sb) を incubate (37°C 4 分間) した時、分解される (Sb) 量を、また (Ki) に関しては (KRE) と standard kallikrein (Ska) を preincubate (37°C 30分間) しさらに (S) を加えて incubate (37°C 4 分間) した時 (Ska) によって遊離される正味 (K) 量を測定することによって見積った。

その結果として、1) K 遊離、(Kn) 活性は蛋白質 (Pr) の多い (I), (L), (Ch) および (R) に高く、(Pr) の少ない (C), (H) および (V) に低かった。2) (Ska) は (I), (Ch), (R), (C), (H) および (V) により完全に、(L) により55%程度抑制された。このことは (L) 以外の各組織に非常に強い (Ska) に対する (Ki) が存在することを示す。しかし、1) の結果で示した各組織の (K) 遊離活性は、それらの組織の (Ki) で抑制されないことから (Ska) とは異った性質を持つ (KRE) であらうことが推測された。

## 28. Spreading depression にともなう脳グリア細胞膜電位変化

東田陽博, 渡辺 悟 (岐阜大, 医, 第一生理)

ウサギの脳皮質, 感覚運動野のグリア細胞の膜電位は、-35から-93 mV までの間にいろいろ

の値を示すが、-47 mV と -78 mV にピークをもち、統計学的に二つの正規分布を示す集団からなっており、それぞれの平均値および偏差は、 $45.6 \pm 6.0$ ,  $75.8 \pm 9.45$  であった。これは、グリアに、主に、2種類あることと関係が深いかも知れない。グリアの、電気刺激に対する反応は、slow depolarization であり、刺激の頻度に応じて、頻度が大きければ大きいほど、反応も大きかった。

この間、slow depolarization とは異った、より早い、2~3秒の経過をもつスパイク様の反応もみられたが、これは、グリアの動きによるものではないか、と思われる、電気刺激や KCl 等の有害刺激を加えると脳表面に、いわゆる、spreading depression が生じる。KCl を脳表面に滴下すると、グリア細胞の膜電位変化は、まずはじめ、hyperpolarization があらわれ、つづいて、40 mV にもおよぶ大きい depolarization がえられた。この変化の大きさは、刺激前の膜電位の大きさに対して強い相関 (相関係数=0.99) を示した。算術的に元の膜電位から、depolarization の大きさを差しひくと、その値はほぼ一定で、 $-34.5 \pm 6.2$  mV であった。このことから、spreading depression がおこっている際の膜電位は、ある absolute peak に近づくと考えられる。いま、ネコの外側膝状体のグリア細胞内のイオン組成 (Koch, Rank & Newman, 1962) より、それぞれのイオンによる平衡電位を計算してみると、 $\text{Cl}^-$  と  $\text{HCO}_3^-$  による平衡電位が約 -30 mV で、値が近い。何らかのかたちで、これらの陰イオンが関与しているのではないかと考えられる。グリアの depolarization は KCl が Ringer 液であらわれるまで、何度か続き、それらは、皮質表面の dc 電位の時間経過と比較的よく一致しており、neuron 同様、グリア細胞も、表面 dc 電位に関与していることがわかる。

## 29. 低体温時のヒナの ERG

大川隆徳, 埜 功 (岐阜大, 医, 第一生理)

1. 先回の本談話会でヒナの ERG と体温の間で特定の変化を認め、いわゆる  $a_1$  および  $a_2$  波の出現について報告した<sup>1)</sup>。今回は水嚢を用いて急激に体温を低下させた時のヒナの ERG についてさらに分析を行ない次の結果をえた。

2. 本実験では30羽の白色レグホン種ヒナ (孵

化後10日～16日令)を用いた。ERG記録方法については先回述べたので省略する。記録にはブラウン管オシロスコープ(日本光電, VCT)およびインク書きオシロ(時定数1.0秒)を使用し同時記録を行なった。時定数0.003～2.0秒間のERGの波形上の変化を検討した。今回はC波も調べる目的で時定数2.0秒を使用した。

### I. 基礎実験

1. 暗順応時間: 1分～40分間の暗順応時のERGを正常体温(37～38°C)下で記録した。その結果、暗順応1分と40分間のERGのa, bおよびC波の振幅の変動に有意な差を認めなかった。ゆえに、1～3分間の暗順応でERGの記録を行なった。

2. 光刺激の強さ: 0.3～80ジュールで刺激し誘発されるERGの波形の変化をみた。20ジュールでa, bおよびC波ともに充分誘発できることが判ったのでこれを光刺激条件に選んだ。

### II. 低体温時のERG

1. 暗順応時: 体温降下とともにbおよびC波の振幅は減少し、30°C(直腸温)付近でb波の上行脚に一つの峯わかれが生じ、さらに体温を降下させるとこの峯わかれの成分は次第に著明となりいわゆるa<sub>2</sub>波に相当する成分を出現させる。一方、23～24°Cでa<sub>1</sub>波にsplitting(a<sub>0</sub>波)が生じ、この成分は回復時(25°C以上)には消失する。

2. 明順応時: 正常体温(37～40°C)時のERGはaおよびb波ともに認められるがC波は消失する。低体温時はaおよびb波の振幅は次第に減少し、暗順応時におけるa波の著明なsplittingは認められなかった。

1) Ookawa et al. (1970) *Experientia*, 26 (3), 277-278

### 30. 腎髄質細胞内pHと尿pHの関係について

藤本 守, 渡辺義行(岐阜大, 医, 第二生理)

尿の酸性化に対して腎髄質の細胞内pHiが如何なる役割を果すかを検索するためにDMO(5, 5-dimethyl-2, 4-oxazolidine-dione)の腎組織内分布と尿ならびに血液pHの変化について検討した。実験はPentbarbitalで麻酔したラットに5%のDMO 2mlを静注し、120分間平衡させた後、腎を摘出し、直ちに液体N<sub>2</sub>で凍結して、皮

質から乳頭部先端までの8層にわけ、各組織切片についてDMOの濃度をアルカリ消化方式を用いて化学的に分析し、乾燥法により水分量を、ネオプレン、イヌリン平衡法により体液区間を調べた。

その結果、無処置正常群ではDMO法による皮質細胞内pH計算値は7.2前後で、表層から深層にかけて余り変化はないが旁髄質から髄質外層部にかけて急激に細胞内pHが低下し6.9～7.0に達し、次いで髄質深部から乳頭部にかけて逆に細胞内pHが7.1～7.3程度まで上昇するというパターンを示した。髄質深部でpHが再上昇する原因としては腎髄質の高浸透圧性にもとづく二次的なDMO<sup>-</sup>濃度の上昇があり、計算によるpHiが真のpHに比べて過大値をとったものと考えられる。試みに皮質髄質間の浸透圧比で補正すると、pHiは酸性尿生成時には皮質から髄質深部にいたる程低下している。次いでDiamox, 重曹およびTHAMなどの投与により尿をアルカリ化させると特に髄質の細胞内pHが高くなり乳頭先端では尿のpHに近づく。一方、硫酸塩および黄血塩を投与して尿を酸性化させると対称群より特に髄質の細胞内pHが低下する。またマニトールのような近位尿管でわずかに酸性化をおこすけれども尿pHを余りかえないような物質では、髄質pHiは対照群より僅か低いだけで著変はない。FurosemideやEthacrynic acid投与によって皮質髄質間の浸透圧勾配を減らすと、酸性尿生成時に髄質深部のpHiの低下が目立ってくる。

以上のことから尿の濃縮時に組織浸透圧がそうであるように腎髄質組織全体が酸性化している可能性があり、H<sup>+</sup>のカウンターカレント系の存在が示唆された。

### 31. Perchlorate 溶液中における bovine plasma albumin (BPA) の N-F transition

曾我美 勝, 上田基二, 小倉茂則(岐阜大, 医, 第二生理)

Plasma albuminは血液中において、種々の化学物質、例えばホルモン、薬物等のtransporterとしての作用をもっている。この作用はplasma albuminの、1) conformational adaptabilityと、2) intramolecular hydrophylic および hydrophobic interface のためであると考えられてい

る。

これら分子内界面の諸性状を研究するため BPA を用い、0.02 M, 0.05 M  $\text{NaClO}_4$  中における二次構造を optical rotation ( $[\alpha]_{233}$ ,  $[\alpha]_{313}$ ), optical rotatory dispersion ( $b_0$ ,  $A_{225}$ ), circular dichroism ( $[\theta]_{222}$ ), 三次構造を acid difference spectrum ( $\Delta\epsilon_{288}/\epsilon_{279}$ ) 等を用いて、研究した。0.02M  $\text{NaClO}_4$  中では BPA 分子の  $[\alpha]_{233}$ -pH profile,  $[\alpha]_{313}$ -pH profile,  $b_0$ -pH profile,  $[\theta]_{222}$ -pH profile,  $\Delta\epsilon_{288}/\epsilon_{279}$ -

pH profile 等は N-F transition, acid expansion に対応して、pH 3.9~3.2, pH 2.6~1.9 において 2 段階の変化を示した。0.05 M  $\text{NaClO}_4$  中では  $[\alpha]_{233}$ -pH profile,  $\Delta\epsilon_{288}/\epsilon_{279}$ -pH profile は N-F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>-F<sub>2</sub> transition, acid expansion に対応して、pH 4.1~3.6, 3.4~2.8, 2.5~1.9 において 3 段階の変化を示した。N-F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>-F<sub>2</sub> transition は BPA 分子の分子内界面の開くことに対応している。



## 第20回日本生理科学連合講演会講演要旨

時 : 昭和46年10月23日 (土) 午後1~5時  
 所 : 東京医科大学同窓会館ホール  
 主催 : 日本学術会議生理科学研究連絡委員  
 加藤元一  
 幹事 : 東京医科大学生理学教室  
 大畑 進, 登坂恒夫

主 題 光 と 生 物
-------------

## 1. 視物質の中間体について

大阪大学理学部生物学教室 吉 沢 透\*

網膜の視細胞外節には、光に感じる色素、視物質が存在する。この色素の吸収曲線は、動物の視感度曲線とよく一致するから、視覚の第1段階は、視物質による光の吸収であることは間違いない。視物質の光化学反応は、多くの他の光化学反応と同様光反応と熱反応とからなり、後者の反応の過程には多くの中間体が存在している。これらの中間体は熱的に不安定なものであるから、低温で吸収曲線を測定することにより、初めてその存在を確認することができる。

視物質の光退色過程にみられる中間体の存在についての最初の記載は、故中島実教授 (1929) の報告である。すなわち rhodopsin の光退色産物は酸性で黄色、アルカリ性で無色を示すことを観察した。その後英国の Lythgoe ら (1937) はこの産物の吸収曲線を測定し、それに indicator yellow と名づけた。さらに 3°C で吸収測定を行ない、indicator yellow より前に transient orange と名づける中間体の存在を報告した。

中間体についての近代的な研究は、1950年に米国の Wald らによって行なわれた。彼らはウシの rhodopsin 溶液を glycerin と混合 (1:1) し、これを dry-ice で冷却して吸収測定を行なった。-45°C で白色光を照射すると、吸収極大の位置は 5 nm 短波長側に移行するとともに、その高さも 5% 上昇した。このものは transient orange と性質が異なるので、彼は lumirhodopsin と名づけた。これを -20°C に温めると、吸収極大はさらに 7 から 9 nm 短波長側に移動する。この産

物は metarhodopsin と名づけられた。その後 Hubbard と Kropf (1958) はイカの metarhodopsin が光によって rhodopsin に戻ることを報告し、Wald の記載した lumirhodopsin および metarhodopsin は rhodopsin, isorhodopsin, thermally labile fractions などからなる混合物で、これらは光平衡状態にあると考え、この labile fractions を lumirhodopsin および metarhodopsin と再定義することを提唱した。同じ時に著者と鬼頭 (1958) は rhodopsin 溶液を液体窒素温度 (-196°C, 77°K) で照射し、lumirhodopsin より以前に存在する中間体を見つけた。この中間体は rhodopsin よりも長波長側に吸収極大をもち、-140°C 以下で、安定なものである (図 1)。Rhodopsin とこの中間体の間には完全な光化学反応が認められ、rhodopsin からこの中間体への光変化は、発色団 11-cis retinal の all-trans 形への光異性化反応であると考えた。その後 Wald とともに低温スペクトル的研究を行ない、新中間産物の吸収曲線を決定し、それを pre-lumirhodopsin ( $\lambda_{max}$ : 543 nm) と呼ぶことにした (1963)。

その後イカの rhodopsin、ニワトリの錐体色素 iodopsin (発色団は retinal<sub>1</sub>)、帰国後堀内とともにフナの porphyropsin (発色団が retinal<sub>2</sub>) について実験を行なった。一般に pre-lumi 中間体 (all-trans 形) は視物質 (11-cis 形)、iso 色素 (9-cis 形) などと完全に光可逆的に反応するだけでなく、その吸収極大の位置は元の視物質より長波長側に位置している。Retinal<sub>1</sub> を発色団とする視物質と retinal<sub>2</sub> を発色団とする視物質では、その吸収曲線の形は低温ではかなり異なる。しかし、視物質

\*現在の所属: 京都大学理学部生物物理学教室

とその pre-lumi 中間体の差スペクトルを波数で目盛るならば、視物質の種類に関係なくほぼ等しい形になる。それゆえ視物質から pre-lumi 中間体への吸収移動の機構は、発色団の環構造や opsin の構造などに関係なく、発色団の側鎖の立体構造の変化に起因したものである。したがって rhodopsin から pre-lumirhodopsin への変化は、発色団11-*cis* retinal から all-*trans* 形への光異性化反応ということができる。

視物質の発色団 retinal ( $C_{19}H_{27}CH=O$ ) は opsin の amino 基 ( $NH_2-R$ ) と Schiff 塩基結合 ( $C_{19}H_{27}CH=NR$ ) していると考えられている。このものは無色であるが、酸性にすると黄色 ( $C_{19}H_{27}CH=N^+HR$ , 440 nm) になる。しかし多くの視物質はより長波長側に吸収極大をもっているから、おそらく retinal と opsin との間には Schiff 塩基結合以外になんらかの結合が存在し、そのために吸収極大が長波長側に移動していると考えられる。したがって視物質の発色団が光異性化するには、(1) 光による retinal と opsin との間の2重結合の開裂、(2) 続いておこる 11-12 の2重結合の回転、(3) こうして生じた all-*trans* 発色団が再び opsin と相互作用をもち、pre-lumi 中間体が生じるなど三つの過程からなると考えられる。このことを考えて著者と堀内は、液体ヘリウム温度 ( $-269^\circ C$ ,  $4.2^\circ K$ ) でウシの rhodopsin の吸収測定を行なった。ウシの rhodopsin を 520 nm よりも長波長の光で照射すると、その吸収曲線は短波長側に移動 (hypsochromic shift) する。これは rhodopsin の一部が hypsorhodopsin に変化したからである。一方、rhodopsin を短波長の光 (437 nm) で照射すると、吸収曲線は長波長側に移動 (bathochromic shift) する。これは bathorhodopsin が生じたからである。このものを液体窒素温度に温め、再び液体ヘリウム温度で測定しても吸収曲線には変化がみられない。このものは pre-lumirhodopsin と同じものであることが確かめられた。Hypsorhodopsin は光を吸収しても、また暗黒中で  $-250^\circ C$  以上に温められても bathorhodopsin に変化する。このように rhodopsin を液体ヘリウム温度で照射した場合に2種の間mediateが生じるのである。

次に hypso 中間体がすべての視物質に存在する中間体であるかどうかを確かめるために、視物

質の中でもウシの rhodopsin と色々な点で性質の異なる視物質 iodopsin ( $\lambda_{max}$ : 562 nm) について塚本らとともに検討を行なった。Iodopsin を液体ヘリウム温度で照射すると、bathoiodopsin を生じるが、hypsoiodopsin に相当する中間体は認められなかった。しかも  $4^\circ K$  での iodopsin の光変化の様子は  $77^\circ K$  における光変化ときわめて類似しているから、hypso 中間体は iodopsin には存在しない中間体とみなされる。したがって hypso 中間体の存否は opsin 構造に依存すると考えられる。さらにニワトリの rhodopsin について hypsorhodopsin の存在を確かめたところ、ウシの場合とほとんど同じ中間体 ( $\lambda_{max}$ : 430 nm) がえられた。

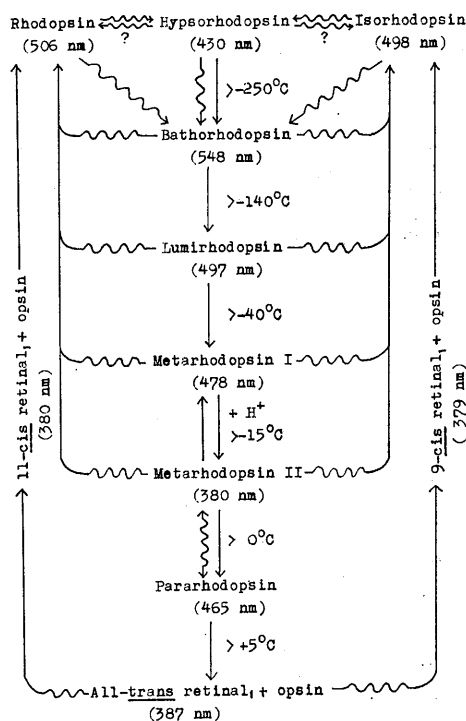


図1. ウシの rhodopsin の退色過程。( ) の中は吸収極大を、温度は遷移温度を示す。→は光反応を示す、⇌は熱反応を示す。

すでに述べたように、rhodopsin から bathorhodopsin までの変化は rhodopsin の発色団の光異性化によるものである。Hypsorhodopsin が光を吸収して bathorhodopsin に変化することを考慮すると、これら二つの中間体の発色団の構造は異なるものと考えられる。鈴木 (早大) によれ

ば, retinal の共役2重結合系の1重結合の回転の energy は非常に小さいと報告されている。したがって hypsorhodopsin が23°K 以上で bathorhodopsin に変化する反応は, 1重結合の回転によるものと考えられよう。中間体の吸収曲線を考慮すると, hypsorhodopsin の発色団は opsin との間に2次的結合がないか, またはその protonation が deprotonate したのではないかと考えられる。一方, bathorhodopsin の段階では, all-trans 発色団は opsin との間に極めて強い相互作用が生じ, おそらく高度に歪んだ構造をもっていると考えられる。

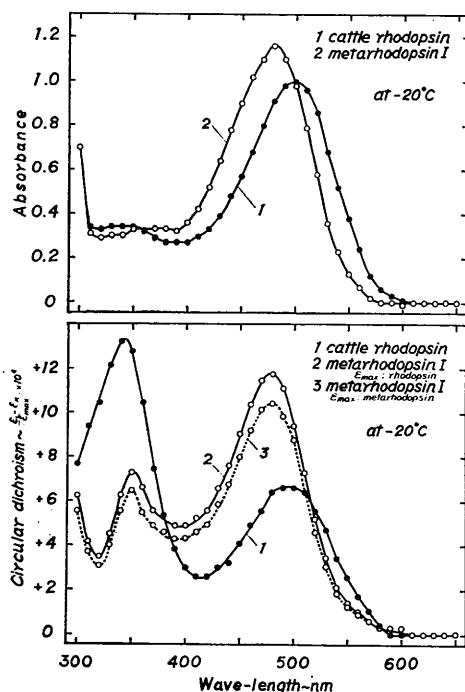


図2. ウシの rhodopsin と metarhodopsin の吸収曲線 (上図) と円二色性 (下図). (吉沢・堀内, 未発表)

Bathorhodopsin を  $-140^{\circ}\text{C}$  以上に温めると lumirhodopsin になる。この変化の過程で歪んだ all-trans 発色団はわずかの opsin 構造の変化によって正常な形となる。実際この過程の活性化 entropy はほとんど変化しない。ところが lumirhodopsin が metarhodopsin I に変化したとき, さらに metarhodopsin I が metarhodopsin II に変化したとき, その  $\Delta S^{\ddagger}$  はそれぞれ 160 e. u., 150 e. u. である。タンパク化学の知見によれば,

大きな正の  $\Delta S^{\ddagger}$  はタンパク質の高次構造の変化を表わすといわれている。Bathorhodopsin から lumirhodopsin への変化の過程で観察されなかった opsin 部分の構造変化は, meta 段階になって初めて起ると考えられる。このような opsin の高次構造の変化は他の物理化学的手段によっても研究されてきた。すなわちウシの rhodopsin の照射前後の紫外部の差吸収曲線や旋光分散, 円二色性, また tritium ( $^3\text{H}$ ) で label された rhodopsin とその光産物の  $\text{H}-^3\text{H}$  交換速度の比較などによって, rhodopsin と退色産物との間で opsin の高次構造が変化することが確かめられている。

最近われわれは視物質の光退色過程で発色団の retinal と opsin との相互関係がどのように変化していくのかを解析するため, 低温で円二色性 (CD) を測定することを試みた。ウシの rhodopsin には  $\alpha$  吸収帯 (498 nm) や  $\beta$  吸収帯 (約350 nm) が存在する (図2上図 curve 1) が, ほぼ同じ位置に光学活性の吸収帯がみられる (図2下図, curve 1)。 $-20^{\circ}\text{C}$  で照射すると rhodopsin は metarhodopsin I (図2上図, curve 2) に変化する。Metarhodopsin I の  $\alpha$  吸収帯の光学活性は顕著な増大を示し約2倍となる (図2下図, curve 2 または 3)。また, その  $\beta$  吸収帯は約半分に減少する。Metarhodopsin I が metarhodopsin II へ変化すると光学活性な吸収帯も移動する。このような meta 中間体までにみられる分子の歪構造は pararhodopsin や最終産物である retinal+opsin の段階では消失する。生きているネズミについての実験によると, metarhodopsin I は 0.25 msec, metarhodopsin II は 63 sec, pararhodopsin は 12 min の半減期をもっている。視覚興奮に関係があるのはおそらく metarhodopsin II までであろう。Metarhodopsin II までにおこる視物質の高次構造変化は今後解析されねばならない問題であろう。

上に述べたように rhodopsin に光があたると発色団 retinal は 11-cis 形から all-trans 形へ光異性化し, それによって opsin 部分の高次構造変化が誘導される。Rhodopsin は外節を構成している単位円板に存在しているから, このような視物質の変化によって単位円板の膜構造が変化すると考えられる。一般には単位円板の膜構造の変化に, より直接関与しているのは発色団の光異性化よりはむしろ opsin の高次構造変化と考えられて

いる。しかしながら vitamin A や retinal には生体膜の ion 透過性を増大させる性質がある。そこで all-trans 形と 11-cis 形 retinal が生体膜の透過性に関していかに異なる効果を与えるかを知るために、ウサギの赤血球を用いて実験を行なった(東・吉沢, 1971)。その結果、赤血球に含まれている  $K^+$  ion の逸出や溶血については、all-trans 形 retinal を赤血球膜に吸着させた方が 11-cis 形の方よりもその効果が強いことがわかった。Retinal はおそらく膜の疎水的部分に吸着され、その結果膜の透過性をかえると考えられる。視物質の状態では、retinal は opsin 構造の疎水的部分の構造の中に埋没している。Metarhodopsin

I および metarhodopsin II の段階で retinal は opsin 構造から突出し、それが単位円板を構成している脂質層に影響を与え、膜透過性を変えるのではないかと想像される。このような視物質の存在している膜や外節をとり囲んでいる膜の光による透過性の変化の機構など今後研究されねばならない問題である。

## 文 献

- 1) 吉沢透 (1971) “生物の物理” 日本物理学会編 p. 253 丸善 (東京)
- 2) Yoshizawa, T. (1971) “Handbook of Sensory Physiology” ed. H. J. A. Dartnall, vol. VII / I p. 146, Springer-Verlag, Heidelberg.

## 2. 脊椎動物網膜の光受容機構

### ——視細胞電位を中心として——

慶応義塾大学医学部生理学教室 村上元彦

視細胞からは電位発生機構が全く異なる 2 種類の電気的変化が観察される。1 つは早期受容器電位 (early receptor potential, 略して early RP または ERP) (Brown & Murakami, 1964), もう 1 つは晚期受容器電位 (late receptor potential, 略して late RP) (Brown, Watanabe & Murakami, 1965) である。Early RP はストロボ放電管の閃光のような極めて強い光で網膜を照射したとき観察されるもので、ほとんど潜時がみられず、視物質の退色過程と密接に関連した電位であり、その発生機構はイオンの膜透過性の変化ではない。Late RP はそれを観察するには比較的弱い刺激光で充分であり、潜時が長く、また細胞形質膜のイオン透過性の変化に起因する電位である。

#### 1. 早期受容器電位 (early RP)

##### A. Early RP の波形

2 相性の電位変化を示し、第 1 相 ( $R_1$ ) の極性は角膜側が正、第 2 相 ( $R_2$ ) は負である (図 1)。

##### B. Early RP のスペクトル感度

Cone (1964) は桿体だけをもっているラットの網膜を使い、early RP のスペクトル感度を測定し、それが rhodopsin のスペクトル吸収曲線と殆んど一致することをみた。

##### C. 光刺激強度と early RP の振巾

Cone (1964) によれば early RP の振巾と刺激

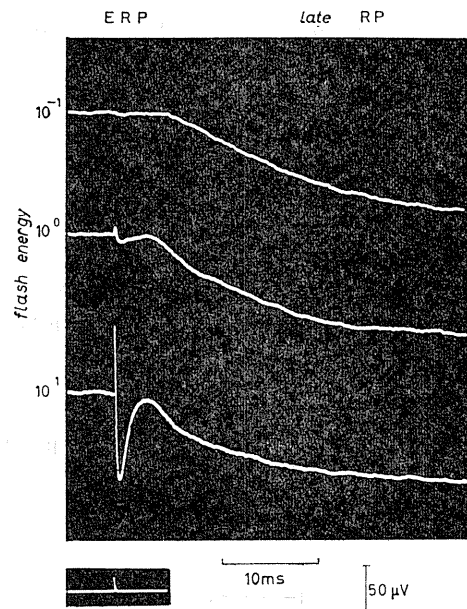


図 1. 閃光の強度と early および late RP. 強度を 10 倍ずつ増加してゆくと、late RP は始めから飽和しているの振巾に差がみられないが、early RP (ERP) は強度に比例して大きくなる。上むきの第 1 相 ( $R_1$ ) は角膜側正、下むきの第 2 相 ( $R_2$ ) は負。24°C のカエル摘出眼よりの記録。左下の記録はフォトダイオードによる閃光の持続時間を示す (Cone, 1966)

強度の関係は Weber-Fechner の法則にしたがわず、ある範囲内で直線関係にある。閃光の強度が非常に強くなって、視物質の退色過程の中間産物が光可逆反応をおこすと光強度に関係なく振幅は一定になる。したがって early RP の振幅は光刺激によって退色した rhodopin の量に比例する。

#### D. Early RP に対する温度の効果

Rhodopsin の退色過程は最初におこる光反応一すなわち立体異性化一とそれに続く熱反応である。熱反応過程の中間産物が安定に存続できる温度がわかっているから、網膜を低温にしたときの early RP を観察し、その波形の変化と中間産物との関係を考察することができる。R<sub>1</sub> は -35°C まで観察できるから、rhodopsin から prelumirhodopsin, あるいは prelumi から meta I, あるいはこれら両者の過程に伴い発生し、R<sub>2</sub> はそれ以後の過程に関連して発生する (Cone, 1964)。

#### E. Early RP の電位発生機構

いわゆる興奮性膜の電位発生機序のように膜のイオン透過性の変化によるものではない。網膜を凍結させても R<sub>1</sub> はみられるし (Cone, 1964), 等張 KCl, 塩化コリン液で ERG は直ちに消失するが early RP には変化がみられない。またホルマリンで組織を固定しても early RP はみられる。現在では early RP は視物質およびその中間

産物の構造変化に伴う電荷の移動によるものと考えるのが一般の見解である。

#### F. 光可逆反応と early RP

もし early RP の電位発生機構が前述の如くであるならば、これら視物質の中間産物が光可逆反応をおこすときこれに伴う電位が観察される筈である。Rhodopsin を完全に退色させたあとで青い閃光 (多くの中間産物の吸収極大は短波長側にある) を照射すると、early RP とは極性が逆な 2 相性の電位が観察される (Cone, 1967)。

#### G. Early RP の発生部位

Early RP は視細胞から発生することは確かであるが、細胞の何処から発生するか不明な点が多い。直接的なデータをうるには early RP を視細胞の細胞内および細胞外から同時に誘導して、それらの極性、波形、時間経過などを比較検討しなければならない。Murakami & Pak (1970) は大やもり (gecko) の視細胞を用いて実験し、図 2 の記録をえた。この実験で、early RP は細胞形質膜をはさんで発生すること、および細胞外誘導波形は細胞内のそれの第 1 次微分波形であることが明らかにされた。すなわち early RP の電流は外節細胞膜を容量性に流れている。もしこの電流が膜のイオン透過性の変化により発生しているものであるならば、電流の流れ方は抵抗性であり、内外誘導波形は時間的経過が一致しなければならない筈である。Early RP は生物電気現象としては極めて特異的なものである。

Early RP が視覚の初期過程において、本筋にのった必須の過程であるのか、あるいは単なる付随現象であるのかどうかを判定する実験事実はまだえられていないが、視物質の構造変化を研究する手段としては広く利用されるようになっていく。

#### 2. 晩期受容器電位 (late receptor potential, late RP)

Brown, Watanabe & Murakami (1965), Murakami & Kaneko (1966) らの実験により mass response としての late RP が ERG の中から分離されたが、もし単一の視細胞の中へ微小電極を刺入することができれば、視細胞レベルでの色覚の機構を解明できる。Tomita, Kaneko, Murakami & Pautler, (1967) はコイの網膜を用いて実験

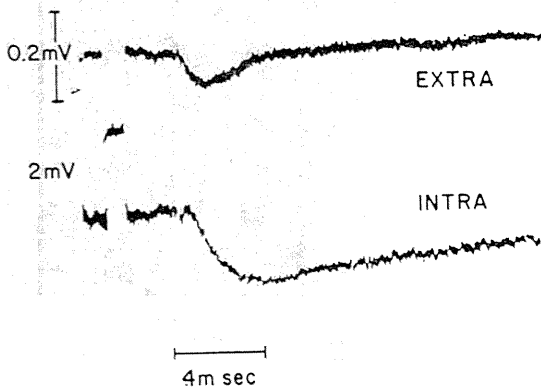


図 2. Gecko の early RP の細胞内外同時誘導記録。第 1 発目の閃光後 60 秒経たのち第 2 発目の閃光によりえられたもの。1 発目の閃光により late RP が抑えられているので、この記録は殆んどが early RP であると考えられる。上の記録は細胞外、下は細胞内記録。細胞外記録の増巾は細胞内の 10 倍、較正電圧パルスは大きさ 2 mV, 巾 1 msec (Murakami & Pak, 1970)。

を企てた。ところが錐体細胞は小さくて先端直径  $0.1\mu$  以下という極く細い微小電極を使っても刺入に成功しなかった。そこで富田は微小電極をゆっくり網膜の中へおろしてゆきながら網膜を電極にむかって叩きあげる方法を考案し刺入に成功した。そして電極が細胞の中へ入ったら、網膜を断続する色光で照射し、1回の照射毎に波長を20 nm づつ変えて、それに対する錐体の電気応答を記録する。この方法を spectral scanning というが、勿論これに使う単色光は等光量子的でなければならない。図3はわれわれがえた単一錐体のスペクトル応答の中から青、緑、赤にピークをもつものを選んで示したものであるが、いつもこのように綺麗な記録がとれるわけではない。電極が極端に細いため電氣的ノイズが大きくて記録を乱すからである。そこでわれわれが一冬かかってえた記録の中から S/N 比の大きいものを142個えらびその平均値と標準偏差を求めてみると、青、緑、赤にピークをもつ3群はそれぞれ、 $462 \pm 15$  nm,  $529 \pm 14$  nm,  $611 \pm 23$  nm であり、これらの値は Marks (1965) がキンギョの単一錐体外節の微小分光光度測定によってえた値と偏差内で一致した。このあと Kaneko & Hashimoto (1967) は電

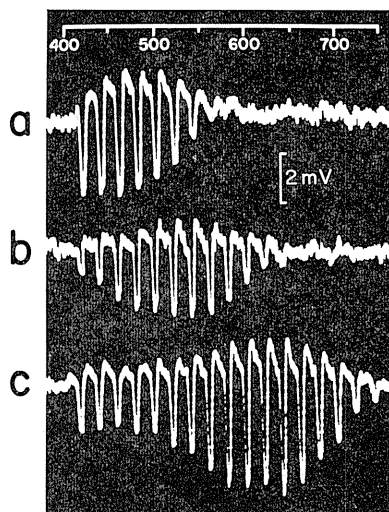


図3. コイ網膜の単一錐体からえられた3種のスペクトル応答。刺激単色光は全波長にわたり等光量子 ( $2 \times 10^5$  photons per  $\mu^2$  sec), 波長間隔20nm, 増巾器は RC 結合で time constant 0.5 sec (Tomita, Kaneko, Murakami & Pautler, 1967).

極マーキング法により記録部位は錐体内節に間違いないことを確認した。これらの実験から色覚受容の第1段階である錐体では Young-Helmholtz の3原色説的機構が働いていることが客観的に立証された。

図3の記録をみて奇異に感ずるのは錐体の late RP の細胞内誘導の極性が負であることである。現在多くの動物の錐体および桿体の細胞内誘導がえられているが何れも例外なく光刺激に対して過分極をしめす。この極性はカブトガニや昆虫の無脊椎動物光受容細胞におけるものと全く逆である。脊椎動物視細胞の過分極性電位発生メカニズムのイオン機構を解明するのに先ず問題になるのは、膜のコンダクタンスがどうなっているかということである。Toyoda, Nosaki & Tomita (1969) の gecko

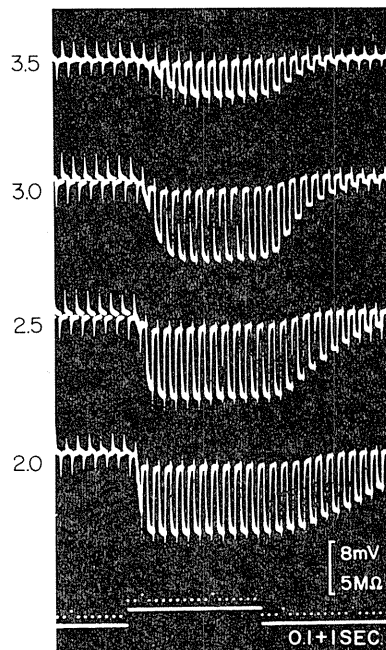


図4. 種々なる強度の白色光に対する gecko の視細胞の膜抵抗変化のブリッジ回路による記録。各記録において late RP は一連のパルスの上部のプロフィールの振れで示され、上部のプロフィールと下部のプロフィールの差が膜抵抗の変化を示す。光強度が大きくなると膜抵抗はより高くなるが、更に強くすると late RP は飽和し、したがって抵抗増大は一定となり、光照射をやめて後の回復が遅くなる。下部の時間スケールの基線のもちあがりには光照射時間を示す (Toyoda, Nosaki & Tomita, 1969).

の視細胞についての実験は光照射時に膜抵抗の増大、すなわちコンダクタンスの減少を示した(第4図)。同じ実験は多くの研究者により種々な動物を使って追試されたが結果は何れも同じであった。引きつづき行なわれた Sillman, Ito & Tomita (1969 a, b) の細胞外イオン濃度の late RP への影響をみた実験は、電位の振巾は外液中の Na イオン濃度の対数に比例し、K イオン濃度の対数に逆比例することを明らかにした。以上の結果を総合し late RP の発生機構は次のようである。すなわち暗時においては視細胞膜は Na イオンに対して高い透過性をもち脱分極している。光照射によりこの透過性は減少する(すなわち膜コンダクタンスは減少する)。そのために膜電位は K イオンの平衡電位であるところの静止電位に近づくのである(いままで便宜上この電位変化を過分極性と言ってきたが正確には再分極性と呼ぶべきである)。したがってもし細胞膜が脱分極することを細胞の活動というならば、脊椎動物の視細胞は暗所で活動しており、明所で活動が抑制されるといふ、神経生理学的いままでの常識から見ると少しく戸惑う表現をしなければならない。

以上脊椎動物視細胞の電気現象について略述したが、視細胞につづく双極細胞、水平細胞、アマク

リン細胞、神経節細胞の細胞内誘導も現在可能であり、蛍光色素 procion yellow を用いた電極マーキング法の発達により、これらの神経細胞の種類とその電気応答の特徴も対応づけられている。また他方電子顕微鏡学的研究はそれら神経細胞間のシナプス連絡を次第に明らかにしつつある。現在われわれの研究の努力は微小電極法を用い、網膜神経細胞における情報処理のシナプス機構を明らかにすることに注がれている。

### 文 献

- 1) Cone, R. A. & Pak, W. L. (1971) The Early Receptor Potential, Handbook of Sensory Physiology, Vol. 1, Principles of Receptor Physiology (ed. W. R. Loewenstein) 345-365, Springer-Verlag.
- 2) Tomita, T. (1970) Electrical Activity of Vertebrate Photoreceptors. Quart. Rev. Biophys. 3 (2), 179-222
- 3) Murakami, M. & Pak, W. L. (1970) Intracellularly Recorded Early Receptor Potential of the Vertebrate Photoreceptors. Vision Res., 10, 965-975

Early RP に関する文献は1)の、また late RP に関するものは2)の総説に収録されているのでここでは逐一列挙しない。

## 3. 眼 点 光 覚

岡山大学理学部臨海実験所 吉 田 正 夫

動物の光受容系において最も低分化と考えられるのはいわゆる分散光覚(皮膚光覚ともいう)系である。この場合、外皮上には特に光受容細胞というようなものではなく、体表全面にわたって感光性が検出される(綜説, Millott, 1968)。しかしウニ類で調べたところによると、その感光性の強弱と表層神経層の分布とが対応し(Millott & Yoshida, 1960 a, b), さらに、一種の中樞神経系ともみられる放射神経そのものが感光性をもつ(Yoshida & Millott, 1959)。この神経の光感受性を通じて棘にみられる陰影反射反応をおこす機構には、分化した受容系でみられるような興奮抑制相互作用や、それに伴う受容の場の考え方に合致する諸現象がみられる(Kennedy, 1960; Yoshida, 1962)。

光の受容機構の進化について考察を行なう場

合、上述の最も低分化のものについての研究は重要であり、事実このような光感受性神経の膜におけるエネルギー転換や(Challazonitis, 1964)活動スペクトルの測定(Arvanitaki & Challazonitis, 1949; Kennedy, 1960; Yoshida & Millott, 1960)を通じての受容物質の考察など、第1次受容機構についての検討が試みられたが、一方このような場合には常に、第1次光受容が行なわれるべき最遠位端についての知見の欠除に遭遇し、トランスデューサーとしての最遠位端細胞の機能についての考察までは進みえていない。

これら最遠位端の細胞がいくらかでも極在化をおこし、その存在が組織学的にも認められ、且その光受容機能は何らかの方法で認められた場合にそれらを眼点と呼んでいる。したがって眼点組織

の分化の度合はさまざまで、その上同じ動物門に属する動物群（例えば軟体動物や環形動物）の中でも極めて低分化の受容器をもったものから、最も分化したいわゆる“眼”をもつものまでがみられ、受容器の分化と動物の進化とは無関係のようにみえる。

このような受容系としての複雑性の中から受容細胞の表層のみをとりあげ、一つの体系化を試みたのが Eakin (1963, 1965) である。彼は受容細胞の進化の道筋を2つにわけ、1つは環形動物、軟体動物、節足動物、扁形動物などを含む感桿型とし、いま1つは腔腸動物、棘皮動物、毛顎動物から脊椎動物に至る繊毛型とした。彼が初期の論文でも述べ、また最近脊索動物の受容器もまた9-0の繊毛型であると述べた論文 (Eakin & Kuda, 1971) で強調している 両型の相異点は、感桿型が繊毛をもつかもたないかというよりも、微絨毛(これが脊椎動物に至って視細胞外節の disc になる)が繊毛突起に由来するか、細胞表面に由来するかの点である。事実感桿型のものでも、その発生途次に繊毛をもつものや (例 *Helix*: Eakin, 1965), 低分化の感桿型で9-2型の繊毛をもつもの (例 *Onithochiton*: Boyle, 1969) などが知られている。

ところで光受容細胞の繊毛は運動性のもとの異り、原則として9-0型をとっている。ところが腔腸動物や棘皮動物の光受容細胞のそれは運動性のもとの同じく9-2型で (図1, 吉田, 弥益, 未発表), これらのものが光受容細胞への specialization をおこす, ごく初期のものであると考えることもできる。

さらにまた照射に伴う細胞内電位変化について Toyoda et al. (1969) は無脊椎動物の脱分極型と脊椎動物の過分極型にわけ、これらは膜抵抗の変化の方向が逆であることに起因することを示した。一方 *Pecten* にみられる繊毛型の遠位, 感桿型の近位細胞からなる二重網膜では, 照射に伴い前者は過分極を, 後者は脱分極をおこすが (Gorman & McReynolds, 1969), これらの変化はいずれも膜のコンダクタンスの増加と結びついていることが示され (McReynolds & Gorman, 1970), この意味で両細胞とも無脊椎動物型をとることが明らかにされた。

これら現在までに知られた知見を考え合わせる

と, 繊毛型の最も原始的な型に属する腔腸および棘皮動物の眼点の構造と機能に関する研究の重要性が浮び上がってくる。しかしこの方面の研究は世界的にも余り進んで居らず, またわれわれの研究も未だ系統立てるまでには至っていないので, 以下には形態, 生理, 生化学, 生態学的な面についての, ここ数年来の知見を断片的に述べる。

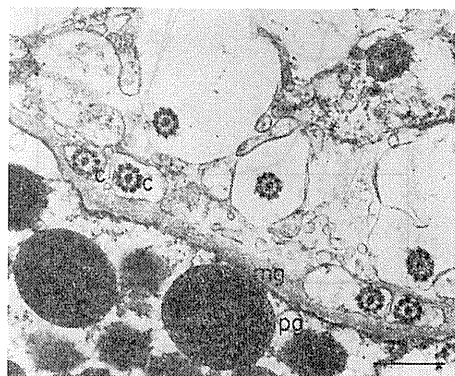


図1. ミズクラゲ小眼点の微細構造。c: 繊毛, mg: 中膠, pg: 色素顆粒。スケール: 0.5 $\mu$  (吉田, 弥益, 未発表)。

**腔腸動物** ハイドロゾア綱のクラゲ (カミクラゲ) は傘の周囲に数百の眼点を持ち, その各々は盃状に陥没し, 感覚細胞および色素細胞で1層の表層を形成している。感覚細胞からは盃腔内に繊毛とともに微絨毛が突出し, 求心的には2極または多極の神経細胞と連絡する。その表層の微細構造は類縁種 *Polyorchis* で Eakin & Westfall (1962) が報告したものに近い。

このクラゲは陰影のみに反応して傘の律動的搏動や触手の収縮を行なうが (Kikuchi, 1949) その反応は眼点を通じてえられる (Hisada, 1956)。照射または光切断に伴ういわゆる眼点電位 (Brown & Ogden, 1968) は未だ検出されていないが, 陰影に伴い傘周辺を走る環状神経から, 腔腸動物としては極めて早いインパルスが, ガラス微小電極および先端研磨の金属電極により導出された。眼点から環状神経への情報伝達の方法については不明であるが, 現在のところ腔腸動物に特有の表層伝達系によるパルスに類似した, かなりおそい電位変化が伝導経路と思われる部位で検出されている (大津, 1971)。

このものの第1次受容物質に関しては未だ不明

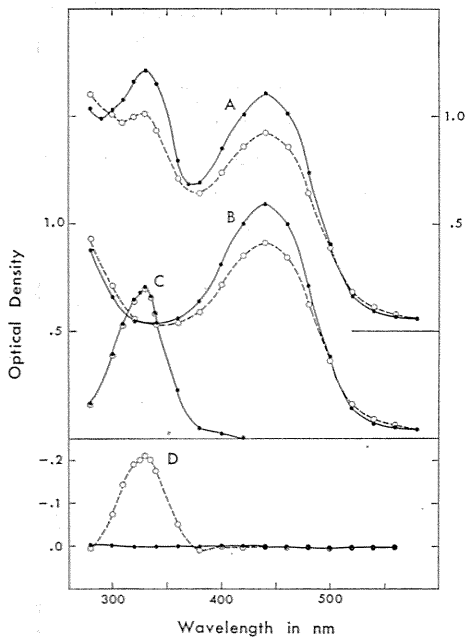


図 2. レチノール-オモクローム系に対する光照射の影響。--○-- 光照射前、—○— 440 nm で光照射した後の吸収スペクトル。A: レチノール-オモクローム混合系、B: オモクローム、C: レチノール、D: (レチノール-オモクローム混合系)-(レチノール単独+オモクローム単独)の差スペクトル。溶媒: 1% コール酸ソーダ・M/15 磷酸緩衝液 (吉田, 小倉, 1971)。



図 3. ヒトデ眼点の眼盃内の微細構造。le: レンズ, c: 繊毛, oc: optic vesicle. スケール: 1  $\mu$  (吉田, 未発表)。

であるが、陰影反応の活動スペクトルの極大は 480~500 nm にある (Yoshida, 1969)。しかしこれが高等動物の視物質系と類似のものであるかどうかは不明であるが、最近眼点に特異的に相当量のレチノール様物質が存在することがわかった (Yoshida, in press) ので、あるいは C<sub>20</sub> 系物質が関与しているのかも知れない。

一方眼点の色素細胞は赤色色素を含んでいるが、このものが嫌気条件下で光によって、顕著な還元を行なうこと (Yoshida & Ohtsuki, 1966)、このものはキサントマチン型オモクロームであること (Yoshida et al., 1967) を決定した。このものの生理的機能については未だ不明であるが、呼吸系に關与して光照射時における代謝促進に關連していることは充分考えうることで、事実、レチノールとの共存下においてそれを特異的に崩壊させることを見出している (図 2, 吉田, 小倉, 1971)。

一方真正水母綱に属するミズクラゲも、その縁辺器官に大、小 2 種の眼点をもっているが、その構造はハイドロクラゲとかなり異っている。大眼点は外胚葉性であるが、色素顆粒を殆ど欠き繊毛を備えたいわゆる感覚細胞のようなものではなく、色素細胞自身から 9-2 型の繊毛を突出している (吉田, 弥益, 未発表)。色素細胞の下には数多くのシナプスがみられ、何等かの感覚的機能を果していると思われるが、電気生理学的にその確証はえられていない。

小眼点は大眼点の反対側、すなわち縁辺器官の下側につき、色素細胞は内胚葉性である。感覚細胞は極めて薄くなった中膠をへだてて色素細胞と相対し、色素細胞の方に向かって 9-2 型の繊毛を出している。神経との接合は盃状陥入域の外側で行なわれているらしく、周辺部にシナプスがみられる (吉田, 弥益, 未発表)。このあたりからはガラス微小電極により光照射および光切断に応じてインパルスが検出され (玉重, 吉田, 未発表)、光受容機能を果していることは確実と思われる。

**棘皮動物** ヒトデの眼点はクラゲ類の眼点と異り個眼の集合した複合眼点で、各腕の先端、すなわち放射神経の延長上、不對触手の根本についている。各眼点は表皮の下にいわゆるレンズを持ち、その下は色素細胞と感覚細胞で作られた盃状に陥入した眼盃を形成している。感覚細胞からは眼盃に向かって optic vesicle を突出し、微繊毛お

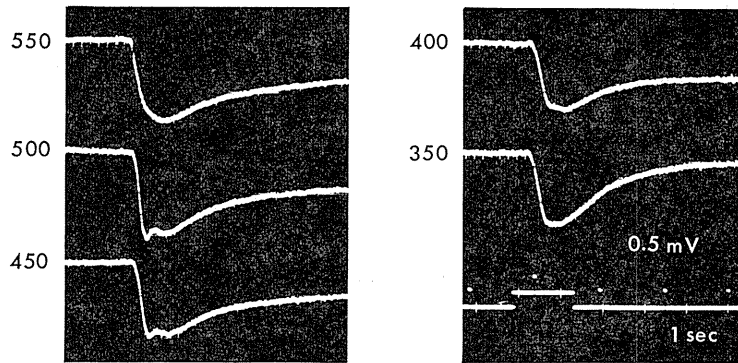


図 4. 等光子照射によるヒトデの眼点電位. 左側の数字は照射波長 (nm) (吉田, 大津, 未発表).

よび繊毛はこの optic vesicle とレンズの間にみられる (図 3, 吉田, 未発表).

ヒトデは光の off に応じて腕の先端を下げ, on に応じて上げる反射反応を行なう. これには皮膚光覚も関与するが, その大部分は眼点を通じてひきおこされる (Yoshida & Ohtsuki, 1966). またその運動方向は, 各腕に対する照射, 陰影の組合せによって, かなり高率に実験者の意志どおりに決定させることができるがこれもまた眼点を除去すると大きく阻害される (Yoshida & Ohtsuki, 1968).

ヒトデの光受容系に由来する電位変化については古く Hartline et al. (1952) の報告はあるが, われわれもこれを追試発展させている. すなわち, 光照射により数 mV 程度の負方向への電位変化がみられるが, この変化は外液の  $\text{Na}^+$  の濃度に依存する. 興味あることは, プロカインによってスパイク状の速い成分と, 遅い成分に分離され (大津, 玉重, 吉田, 1970), いろいろな波長の光で等光子照射を行なうと, 前者は可視部の比較的狭い範囲に感度をもつにすぎない. また遅い成分の振幅は近紫外部 (350 nm) に至ると再び増大する傾向を示し, 紫外部にも相当の感受性をもつことが示されている (図 4, 吉田, 大津, 未発表). このことと, さきに発表した活動スペクトル (Yoshida & Ohtsuki, 1966) との比較は困難であるが, 後者が 464 nm またはそれよりやや短波長のところに極大をもつ比較的半幅値の狭いものであることを考えると, 2相のうちの速い成分が反射反応に関与していることが考えられる.

#### 文 献

1) Arvanitaki, A. & Challazonitis, N. (1949)

Archs. Sci. Physiol. **3**, 27-44  
 2) Boyle, P. R. (1969) Nature, **222**, 895-896  
 3) Brown, H. M. & Ogden, T. E. (1968) J. gen. Physiol. **51**, 239-260  
 4) Challazonitis, N. (1964) Photochem. Photo-biol. **3**, 539-559  
 5) Eakin, R. M. (1963) General physiology of cell specialization. 393-425 McGraw-Hill N. Y.  
 6) Eakin, R. M. (1965) Cold Spring Harb. Sym. quant. Biol. **30**, 363-370  
 7) Eakin, R. M. & Kuda, A. (1971) Z. Zellforsch. **112**, 287-312  
 8) Eakin, R. M. & Westfall, J. A. (1962) Proc. Nat. Acad. Sci. **48**, 826-833  
 9) Gorman, A. L. F. & McReynolds, J. S. (1969) Science, **165**, 309-310  
 10) Hartline, H. K., Wagner, H. G. & Mac Nichol Jr, E. F. (1952) Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol. **17**, 125-141  
 11) Hisada, M. (1956) J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. IV **12**, 529-533  
 12) Kennedy, D. (1960) J. gen. Physiol. **44**, 227-299  
 13) McReynolds, J. S. & Gorman, A. L. F. (1970) J. gen. Physiol. **56**, 392-406  
 14) Millott, N. (1968) Symp. zool. Soc. Lond. **23**, 1-36  
 15) Millott, N. & Yoshida, M. (1960 a) J. exp. Biol. **37**, 363-375  
 16) Millott, M. & Yoshida, M. (1960 b) *ibid.* **37**, 376-389  
 17) 大津浩二 (1971) 動雑 **80**, (印刷中)  
 18) 大津浩二, 玉重三男, 吉田正夫 (1970) 動雑 **79**, 325-326  
 19) Toyoda, J., Nosaki, H. & Tomita, T. (1969) Vision Res. **9**, 453-463  
 20) Yoshida, M. (1962) J. exp. Biol. **39**, 589-602

- 21) Yoshida, M. (1969) Bull. Mar. Biol. Ass. Asamushi, **13**, 215-219  
 22) Yoshida, M.: Vision Res. in press.  
 23) Yoshida, M. & Millott, N. (1959) Experientia, **15**, 13-14  
 24) Yoshida, M. & Millott, N. (1960) J. exp. Biol. **37**, 390-397  
 25) 吉田正夫, 小倉真理子 (1971) 動雑 **80** (印刷中)  
 26) Yoshida, M. & Ohtsuki, H. (1966) Science, **153**, 197-198  
 27) Yoshida, M. & Ohtsuki, H. (1966) Photochem. Photobiol. **5**, 99-111  
 28) Yoshida, M. & Ohtsuki, H. (1968) Biol. Bull. **134**, 516-532  
 29) Yoshida, M., Ohtsuki, H. & Suguri, S. (1967) Photochem. Photobiol. **6**, 875-884

#### 4. 光合成のエネルギー変換の調節と物理的状態変化

九州大学理学部生物 西村光雄

(要旨は演者の希望により省略)

#### 5. 農業における植物の光反応生理

理化学研究所生物試験室 橋本徹

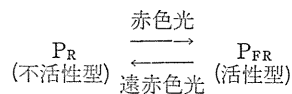
植物の生育におよぼす光の効果は、光合成と光形態形成反応に大別される。すべての緑色植物は光合成産物を建築材料およびエネルギー源として生育するが、高等植物—農作物はすべて含まれる—は光合成のほかに生長を含む広義の形態形成においても光の影響を強く受ける。発芽にはじまり、茎や葉の生長、開花(花芽形成)、結実、老化など life cycle のほとんどすべての過程で光の作用のもとに正常な生活を営んでいる。このような光の生育調節効果が科学的に認められるようになったのは、光合成に比べてずっと最近のことである。現在よくわかっている代表的な例をいくつか挙げてみることにする。

##### 1. 発育過程における光反応生理

**発芽** 多くの植物種子は発芽に光を必要とする。このような種子を光発芽種子という。野草種子では、70%が光発芽種子である。光の効果は種子の種類によって異なるが、Grand Rapids 種のチンヤでは、吸水した種子にわずか  $10^4$  erg/cm<sup>2</sup> の赤色光照射によって発芽がひきおこされる。赤色光照射後直ちに遠赤光(Far red)を照射すると、赤色光の効果は打消されて発芽しない。この遠赤光による赤色光の打消しは、何回でも可逆的に繰返すことができ、最後に照射された光が赤であれば発芽を見、遠赤であれば発芽を見ない。このような現象はエゾギシギシ、イヌガヤなど多くの種子で認められている。ここにはファイトクローム(phytochrome)という色素が光受容体として作用しており、

表1. Grand Rapids 種チンヤ種子の発芽におよぼす赤色光(R)と遠赤色光(F)の効果

照 射	発 芽 率
None (暗黒対照)	8.5
R	98
R-F	54
R-F-R	100
R-F-R-F	43
R-F-R-F-R	99
R-F-R-F-R-F	54
R-F-R-F-R-F-R	98



のように不活性型の  $P_R$  は 660 nm 附近の赤色光を吸収して活性型  $P_{FR}$  に変化して作用するが、これは 730 nm 附近の遠赤光によって可逆的に  $P_R$  にもどることが解明された。

種子によっては長時間の連続照射を必要とするもの(長日型)や、短時間の照射を数回必要とするもの(短日型)などがある。有効な波長として赤の他に青色光が有効な種子もあり、また、赤色光と同程度に緑色光が発芽促進するもの(オオダイコンソウ、コウゾリナ)もある。

**莖の伸長** 暗黒中で芽生えを育てると葉は展開せず、莖は徒長していわゆるモヤシのようになる。これを黄化(etiolation)という。黄化を防ぐのに最も有効な光は赤であって、赤の効果は遠赤によって打消される。すなわちファイトクローム

反応である。エンドウなどでよく調べられている。しかし明所で育てた、もっと stage の進んだ植物ではかならずしもファイトクローム反応で片付けられないような現象が見られる。例えばトマトでは赤も青も同様に茎の伸長を抑制するが、青と遠赤を同時に照射すると茎は著しく徒長する。オシロイバナ (*Mirabilis jalapa*) では赤は緑色光と同様に何ら抑制効果を示さず、青のみが伸長を抑制し、健全な外観を与える。青に遠赤を加えても大した伸長促進効果をもたらさない。赤と青とを交互に与えると、最終的にどちらかが照射されても、青の効果が現れる。

**葉の生長** 光は葉の生長に不可欠の重要な要因の一つである。暗黒では葉は展開せず、著しく小さい形にとどまる。黄化したエンドウやインゲンマメの初生葉の生長には赤色光が有効であり、遠赤による打消しも認められている。しかし、オシロイバナ (*Mirabilis*)、ハッカ (*Mentha*) やジャガイモの葉は赤色光の下では十分に生長せず、表面は萎縮してちりめん状になる。正常な生長には青色光が不可欠である。

**花芽形成 (開花)** 花芽形成には光照射のエネルギーよりも、照射時間が関与している。一定時間以上の日長が数回繰返し与えられた時花芽をつける長日植物、一定時間以下の日長のときつける短日植物、さらに日長に関係なく花芽をつける中性植物に大別される。長日植物および短日植物のこのような性質を光週期性とよんでいる。光週期性は厳密に言えば明期の長さではなく、暗期の長さが決定要因であって、短日植物は長夜植物、長日植物は短夜植物というべきであろう。長夜条件下では、短日植物は花成し、長日植物は花成しないが、もし暗期の中央で短時間の照射を行なって暗期を2分すると——これを光中断とよぶ——結果は逆になるからである。

光中断に用いる光はその質が効果に大いに関係し、赤色光が最も有効である。そしてここでも遠赤による打消しが認められ、ファイトクロームが関与していると考えられている。

一方、主明期の有効光質は光中断の場合と全く異っている。長日植物であるヒヨス (*Hyoscyamus niger*) でよく観察されているように、主明期の照射光に青または遠赤光を含んでいなければならない。十分に長い時間の照射でも緑や赤では長日効

果を与えない。また表2に示すように、青、緑、赤の単色光で短日条件を与えると、これは長日植物であるから勿論どの光の下でも花芽はできな

表2. ヒヨスの開花と光質の関係

		時 間		開花
		0	10	24
	主明期	暗		—
青	青	光中断	青	+
			緑	+
			赤	—
緑	緑	光中断	青	—
			緑	—
			赤	—
赤	赤	光中断	青	—
			緑	—
			赤	—

い。暗期を青、緑、赤、遠赤で光中断を行なって花芽形成をしらべたところ、花成したのは主明期が青、光中断が緑と赤のときのみであった。つまり光中断には赤 (ここでは緑も) が有効であり、主明期は青でなければならないことがわかる。このような現象はサルヴィア (短日植物) やオオバコ (長日植物) でも認められた。

**休眠・落葉** 休眠や落葉は植物の内部要因や外圍条件など種々の要因によって惹き起こされる。地球上の中緯度地域においては日長による休眠が、寒い冬を越すのにとくに重要である。ポプラ、マツ、カラマツ、カシなどは短日条件で頂芽の生育がとまり休眠に入る。カラマツでは7日間の短日処理で十分である。そして落葉性のポプラやカラマツでは葉の基部に離層が形成され落葉する。休眠は樹木だけでなく、越年生の草本でも見られ、短日処理によってひき起こされる。イチゴはよく研究されている例である。

これらの植物の休眠は4°C附近の低温に2カ月くらいさらされることによって打破される。

**色素形成** 葉緑素やアントシアンは光の作用のもとに形成される代表的植物色素である。葉緑素は青色光によってもっとも多量に形成される。精密な実験によれば弱光で満足される第1の反応と強光が要求される第2の反応とにわけられるという。弱光反応の action spectrum では赤に大きなピークと青に小さいピークが見られる。この際、赤色光の作物は遠赤によって打消され、ファイト

クロームが関与していることが示唆される。強光反応はたいていの色で進行するが、とくに青色光が顕著な効果をもたらすという。

アントシアンはリンゴの外果皮、レッドキャベツ、カラシナ、カブの幼植物などに含まれる色素であるが、ファイトクロームが光受容体となっている光化学反応によって形成される。

## 2. 光反応生理の農業的応用と基礎研究への影響

最近わが国においては限られた農地面積からより多くの収入をうるため、電力を用いた育苗や温室栽培などの施設農業が盛んになって来ている。単位面積あたりの収穫量の増加をめざすだけでなく、収穫物の品質を向上させ、さらに価格が高騰する端境期に野菜、果物、花卉を出荷できるように努力されている。また苗の植付けや収穫などの農作業を機械化するためには、それに適するような形態に育てることが必要になる。

このような目的には施肥技術の改良や生長調節剤の利用もかなりの成果を収めて来た。しかし施肥技術はこれ以上改良の余地はほとんどないし、薬剤の使用はその残留毒性の可能性を含むため、なるべく使用をひかえるべきであろう。したがって光の効果的利用は有望な栽培技術となると考えられる。農林省では昭和45年度より5カ年計画で、農業における光質利用の技術化に関する総合研究を推進しており、何らかの成果が上ることが期待されている。

植物を育てる光源として、基本的には、経済的に見て自然光（太陽光）を用いなければならない。電灯はあくまで補助光としてのみ用いられる。日の出前あるいは日没後に電灯を点けることによって日長を延長したり、光中断によって暗期を二分して長日効果を与えることができる。農業上実行されている例としては電照菊がある。秋、自然日長が短日条件になるとき、照明によって花芽形成をおくらせ、正月などに出荷できるようにしている。またサトウキビ畑で真夜中にフラッシュをたいて光中断を行ない、栄養生長の期間を延長し砂糖の収量を高めることも外国で行なわれているとき。

蔬菜や果菜類の早出し栽培では、育苗期が11～2月になることが多く、日長が短い上、裏日本地

方の温室では日射量が少いので、電灯による補助照射がしばしば用いられる。苗として望ましい形に仕立てるには、光合成の促進と同時にそれぞれの植物の、光に対する形態形成反応を考慮して、波長分布の適切な光源を用いることが大切であろう。すでに述べたように最適波長は植物の種類によって異っているため、それぞれの作物について詳細な実験が望まれる。

光質利用のもう一つの方法は、適当な色フィルターを用いて自然光の中の有効な波長を選ぶことである。これは一部の光をカットするため必然的に全光線量の減少をもたらすが、それによって生ずる不利益を最小限におさえ、光線の質の選択による利益を大きくしなければならぬ。光線カットの割合を加減し、全生育期間の中のある時期を選んで用いれば効果をあげうるものと考えられる。青色のビニールフィルムをビニール・ハウスに用いて、イチゴの促成栽培（休眠打破と長日効果）に効果をあげた試験例がある。トマト、コカブ、ハウレンソウなどの生育も無色区に比べて青色区で促進され、橙色区では抑制されたという（農光研40年度報告）。また紫外線カットフィルムと透過フィルムを用いて冬期に試験した結果、紫外線カット区では、タカナ、コマツナ、ハウレンソウの生育が透過区の2倍以上に促進された（農林省農林水産技術会議、45年度報告）。

技術化研究においては、植物生理学的純基礎研究の結果を踏まえて、それを実際に移して行く応用研究は、正しい一つの方向ではあるが、一方基礎とはかかわりなく試行錯誤的に行なわれる実用研究もまた極めて大切である。光週期性やファイトクロームなど植物生理学的に重要な発見が農作物の栽培の中からえられた事実を考えると、このような実用研究から興味ある新現象が発見される可能性が高いと思われる。

光の形態形成作用はおそらく植物ホルモンのような作用物質を介して行なわれていると考えられる。光条件を調節することによって、そのホルモンを含む植物と含まない植物を作ることが可能であろうし、これらは、それぞれそのホルモンの抽出と検定の材料として絶好のものであろう。われわれは新しいホルモンの発見の希望をもって光の生理作用に関する研究を進めている。

## 新潟大学医学部生理学教室史

### 沿 革

新潟大学医学部の歴史は明治3年(1870年)の共立病院設立にはじまる。共立病院はその後、第一大区協立病院(1873)、県立新潟病院(1875)を経て、1879年、新潟医学校の創立となり、新潟医学所(1883)と変ったが、1887年医学所は廃止され、附属病院のみが新潟区病院となって残った(1888)。この病院は翌年市立新潟病院となり、これを母体として、明治43年3月(1910)、官立新潟医学専門学校が誕生し、8名の教授が専任された。

#### 藤田敏彦教授の時代

生理学教授としては藤田敏彦(東大, 医, 1905卒)が10月着任した。このときが当生理学教室のはじまりである。当時、助手として、大掛長次郎がおり、1914年岩城清士が加わった。藤田教授は1912年医化学教室の設置に到る間、医化学の講義示説を併せ行なった。医専は教育機関であって研究機関ではなかったため、研究費はなかったが、ある程度、要求によって実験機械などを充実させていくことができた。

研究業績の主なもの挙げれば、暗順応の研究、目測の研究、日本語の構音、骨格筋の興奮性、輸精管運動などの研究がある。

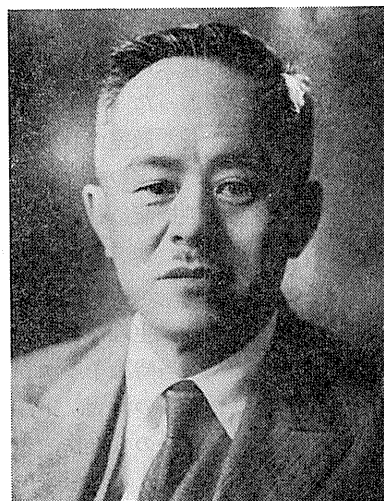
#### 横田武三教授の時代

藤田教授は大正6年(1917)東北帝大医学部に転任し、後任として横田武三(九大, 医, 1911卒, 東大, 物理, 1915卒)が着任した。横田教授は1921~1923年、ヨーロッパに留学した。この間、1922年4月、新潟医科大学に昇格し、横田教授が同学教授になり、東北帝大助手岩城清士(新潟医専第1回生, 1915年卒)が助教教授に任ぜられた。

岩城助教は骨格筋の収縮、疲労について研究したが、不幸1925年病にたおれた。岩城助教は研究のかたわら、よく内外の書を読み博覧



藤田敏彦教授



横田武三教授

強記の人であった。歿後出版されたその著書「不老長寿の科学的研究」(杉山書店, 1926)はこうした読書と批判から生れた優れた啓蒙的総説である。この本には、藤田教授、横田武三教授が序文をかいているが、その文章は門下を愛し、その死を惜む情があふれ、胸をうつものがある。このような師弟の交情は教室の中のみならず、現在におよんでいる。

当時、助手には岡本 孝がおり、中暑症などの研究を行なった。岩城助教授死去ののち、1928年4月佐藤庄治（新潟医大、1927年卒）が講師となり、翌年8月、助教授になった。この頃、広川 護が迷路破壊実験を行なっていたが、やがて京大耳鼻科に転じた。

佐藤助教授の研究主題は骨格筋であったが、1931年頃からは胆汁分泌の液性調整の研究に入った。この頃は、いろいろの器官の機能に対する液性調整物質の探求が各所でひろく行なわれていた時代であった。

同じ頃、福原 武は腹窓法による消化管運動の研究に着手した。石黒芳雄（海軍研究科学生）は当時第二内科にあった弦電流計を生理教室に移して、心臓の興奮伝導についての研究を行なった。石黒は後年第二次大戦中海軍航空廠医学部長として、海軍の航空医学研究の中心であった。後に本学生理学第一講座の教授となった内菌耕二も当時石黒中将のもとで研究をしていたのも奇縁である。河路貞夫は石黒の仕事を引きつぎ、当時最新装置であった Siemens 社の心電計を用いて研究し、長く教室の心臓研究の中核であった。こうして、教室の主な研究テーマが動物性機能から植物性機能に移っていった。

1930年4月、福原 武（新潟医大、1928卒）が講師となった。

1932年3月、第11回日本生理学会総会が新潟で開かれ（演題数138）、当時論争のつづいていた麻酔神経の伝導についての減衰、不減衰の問題について、横田教授座長のもとに、充分時間をかけた討論が行なわれた。

1933年4月、佐藤助教授の精神科転出のあと、福原 武が助教授に任じられた。彼が入室以来行なって来た消化管運動の研究はまず腹窓法の改良にはじまった。腹窓法と活動写真の併用による内臓運動の研究は、小腸運動の研究にはじまり、やがて、胃、大腸、尿管、卵管、子宮および、この一連の研究は、1941年福原助教授が北京大学医学院教授として転出するまで、心臓の興奮伝導の仕事とともに、教室の主な研究主題であった。これらの問題に関する発

表論文は49篇におよび、研究にたずさわったのは福原助教授はじめ、木野勢新次郎（胃、十二指腸、卵管、腸運動ホルモン）、川崎元一（胃、十二指腸、小腸）、梶田亀次郎（十二指腸、小腸、大腸）、相羽 昭（大腸、尿管）、倉品克一郎（子宮）らであった。また、弦電流計による尿管の活動電流の研究（相羽）もなされた。

実験の準備、介補などには長井六平、宮野幸吉がつねに熱心に協力した。長井は教室開設当初から1957年まで教室に在籍し、金属工作や写真技術の面で協力し、宮野は現在なお在職し、実験の介補に長年の経験を生かしている。これら諸器官についての研究は新潟の腹窓法として、学界に名を残した。ことに福原の小腸運動の解析は日本生理学における最もすぐれた業績の一つであろう。

福原は His 束切断実験その他の方法により心臓刺激伝導系の研究に1935年頃より入り、その研究は北京大学においても続けられた。

1938年11月福原助教授の北京大学転出のあと、九州帝大から高木健太郎（九大、医、1934卒）が1939年2月助教授として着任した。高木助教授は迷走神経の呼吸調節作用についての研究を始めた。池 留雄、佐藤謙助がそれに協力した。同年5月臨時附属医学専門部が併置された。

1941年第2次世界戦がはじまり各教室とも教室員の応召により研究員の不足に悩まされることが甚しくなり、学生がその欠を補って研究の下ばたらきをする傾向がみられるようになった。生理学教室にも長谷川 渙、土屋重朗、小林庄一、長谷川 弘、根元 坦、大関清康、新島 旭、桜井達男、石井公正、麻生田亮、田島達也、鯉田 寿が次々と入って来た。池 留雄（新潟医大、1938卒）は1941年4月講師になり、示説、実習に熱意を示したが、1942年1月退職した。研究主題は、陸軍の依頼研究などもあって、航空呼吸生理が主になった。産婦人科の桑島亥四郎専門部教授もこの研究に加わった。耳鼻咽喉科森本正紀助教授も迷路機能についての研究のため、須田圭三、加藤初蔵の二学生と

もに教室で主として夜に仕事をした。

1944年1月、佐藤謙助は陸軍臨時嘱託として第八陸軍航空技術研究所へ赴任し、高木助教授も同年7月戦時研究員を依頼され、10月陸軍臨時嘱託になった。こうして新潟と立川とを研究の場として、悪化した戦況の下に何か張りのある高高度呼吸に関する研究活動が続けられた。高木助教授にとっては中枢機構を探るための手段であった呼吸の研究が、こうして呼吸の化学にもおよぶことになった。1945年2月、横田武三教授は脳動脈硬化症および気管支肺炎のため新潟医科大学第二内科において永眠された。横田教授は専門の学術に関する著述はほとんどなく、原著は東京帝国大学物理学教室において、寺田寅彦教授との共著になる気象に関する論文ただ一つであった。しかし、教授の明晰な頭脳から生れる研究上の指導、示唆、忠言はよくその核心をつき、研究にその方向を誤らせなかった。また、学生の教育には極めて熱意をもたれ、生理学の講義のほか、早朝あるいは放課後に行なわれた語学、数学、物理学などの課外教授においては、学生は教授の熱意によって奮起したようなことがしばしばであった。

横田教授の知識は多方面にわたっていたばかりでなく、いずれも深いものであった。ことに語学はドイツ、フランス、英語はもとより、ギリシャ、ラテン、サンスクリットの古典語にも造詣が深く、後には中国語も学ばれた。晩年、旧制新潟高等学校の外人教師 Jacob Fischer の協力をえて、維摩経をサンスクリットの原典からドイツ語に訳され、北星堂から出版された。これは心労の多い仕事であったと思われるが、この仕事をされているときの教授は大変楽しそうにみうけられた。

一般の社会事象に対する判断や批判についても、つねに一家言をなし、寸鉄よく人をつく独自の風格を具えておられた。

横田教授はまた熱心なローマ字国語論者であり、身をもってそれを実行し、講義のノート、手紙など通用する範囲にはすべてローマ字をつかわれた。1941年頃、のどを痛められたとき、



高木健太郎教授

1カ年以上にわたって、全く無言でローマ字を黒板一杯に書いて講義されたことは当時学内の話題になった。

既成の宗教には全く信仰をもたず独自の科学的死生観をもっていたようである。

横田教授のなくなった年は珍しい大雪だった。戦況はいよいよ悪化し、本土にも頻繁に空襲があり、世は騒がしかった。それでも新潟はまだ落ちついてた。大雪の中で、大学葬が行なわれた。在世中に門下の人々に多くのすぐれた業績を挙げさせた教授の心は門下の心に残り、なくなれたあとも、研究の推進者、批判者となっているにちがいない。

#### 高木健太郎教授の時代

1945年5月、横田教授の後任としても、高木健太郎助教授が教授に就任した。この頃から戦局は不利となり、第八陸軍航空技術研究所第十二研究室(主任鈴木憲輔中佐)の一部が新潟県立新潟工業学校に疎開する話が進められ、教室も全面的に疎開に協力した。また、新潟市附近にあった暁部隊がその蓄電池の補修のために教室の手術室を借りた。教室の仕事を手つだっていた学生たちも卒業とともに軍隊に入っていた。そして、研究補助者が4人すべて女性の人々が

相ついで教室に入り、研究の手伝いをした。

1945年6月、新潟も空襲をうけるかも知れぬというので、教室は少しづつ郊外にある新潟脳病院、近郊の焼酎の国民学校に疎開をはじめた。大学も建物の間引きが論議され、生理学教室はじめ二、三の教室の講堂、実習室が取壊されることになった。

1945年7月、藤田教授以来の数々の研究や勉学の思い出に満ちた二階建の建物が陸軍工兵隊の手によって砂ぼこりの中に倒れた。研究は高木教授の指導で、学生たちによって、前記疎開先で行なわれた。当時は一人の助手も一人の副手もいなかった。1945年8月に入って、長岡市が空襲をうけ、新潟市に新型爆弾の投下があるかもしれないと知らされ、新潟市は一夜にして大半空家になるという大疎開が行なわれた。

こうして、1945年8月15日敗戦、虚脱が教室を覆った。9月、疎開先からの引き上げが始まった。帰るべき教室はこわされているので、元来学生の厚生施設である池原記念館を仮の教室とした。当時はここに東大伝研の長谷川秀治教授の研究室の一部が疎開していたが、やがて引き上げていった。ここに、生理学教室は1947年3月までいた。その間に、立川から佐藤謙助(新潟医大、1940卒)が復帰し、10月助教授に就任した。軍隊にいていたものも、次第に帰って来た。佐藤助教授は機械量を電氣量に変換して記録する方法を相羽志朗とともにしらべ、一方、脳波の研究への準備が進められた。運動時の呼吸促進(長谷川 弘)、いきこらえ(小林庄一)、血圧の連続描写(長谷川友也)、瞳孔運動(須田圭三)の研究がここで行なわれた。新島旭は1947年8月から翌年3月まで東京医科歯科大学生理学教室で山極一三教授から神経生理の基礎について指導をうけた。

この頃、病気でしばらく静養された高木教授がたまたま側臥による半側発汗に気づいたのがその後の圧反射研究のきっかけになった。

1947年3月、もとの建物のあとに平屋で材木も細い教室ができた。この建物に何回かの補修を加えたものが、現在の第一講座の建物で

ある。

佐藤助教授は長崎大学医学部へ転出するまで、ここで脳波の研究に専心し、脳波の発生機序、解釈法について独自の振動論的理論を完成した。これには石井公正、村田和子、小口周男、渡辺千春が協力した。1950年、佐藤助教授の「平均値と百分率の正しい取扱い方」が研修書房(新潟)から出版され、4版を重ねた。

圧・発汗反射の研究(高木、桜井達男)は発汗室がないので環境温を上げるのに苦勞した。呼吸関係では運動時の呼吸促進(長谷川 弘)、いきこらえ(小林庄一、長谷川友也、新島旭)、呼吸条件反射(長谷川 渙)、迷走神経反射(石井公正)、筋固有反射(広神俊郎)、カエルの呼吸(加藤初蔵、新島 旭)などが行なわれた。瞳孔運動(真柄敏正)、心電図(白井卓朗)の研究もなされた。なお1948年2月、長谷川渙が附属専門部教授になった。

1948年5月第25回日本生理学会総会が新潟で開かれ、2会場で3日間、演題数180であった。この学会の前、数週間、田崎一二博士が教室に泊りこみで単一線維の仕事をしていった。この年、佐藤助教授の「平均値と百分率」が白林社(新潟)から出た。1949年、小林庄一は結核予防会結核研究所生理化学部へ移った。1950年3月、長谷川 渙(新潟医大、1944卒)が講師になった。同年、一般向きの教養書として高木健太郎著「新しい生理学読本」が白林社から出版された。本書はその後、増補改訂をし、第4版まで出た。

高木教授は「生理学講座」(中山書店、1952)に呼吸の項を執筆した。1950年には簡易な発汗室ができた。

1949年から1956年の間、教室は圧反射の嵐がふきまわった。人をみれば圧す、動物をみれば、はさむといった風であった。これまで圧自律反射のみに限られていた圧反射の研究に、圧・錐体外路反射、圧・体液反射、圧・知覚反射が次々と加わっていった。この間に行なわれた研究を列挙すると、圧・自律反射としては、汗(川瀬隆男、松本良二、長谷川 弘、林 正

吾), 皮温, 体温 (桜井達男, 長谷川 弘, 土屋重忠, 松井治夫, 松本良二, 小沢 孝), 肺活量 (佐藤 先), 呼吸数 (新島 旭), 肺温, 気管支, 肺循環 (植木俊次, 滝沢修三, 古寺秀喜, 島田久八郎, 生垣 浩), ガス代謝 (土屋重忠), 消化管運動 (渡辺澄男), 鼻粘膜血行 (河合 仁, 北原実衛), 唾液分泌 (宮本清純) の研究があり, 圧・錐体外路反射に属するものに, 筋緊張に関するものと, 周期性運動に関するものがあり, これに関して, 触刺激と圧刺激の差異が明らかにされた (長谷川 渙, 倉島昭示, 佐藤素一, 岡井一雄, 山崎恒雄, 磯野 弘, 上の畑周二).

圧・体液反射に入るものには, 緊縛過血糖の研究 (真柄三夫) がある. 圧・知覚反射は皮膚知覚を指標として屋井ヒデ子, 黒岩秀子によって追究された. また, 佐藤助教授は中枢に対する皮膚触・圧刺激の影響を脳波学的に研究した. 圧反射の反射径路についてもしらべられ (岡井一雄, 松本良二, 土屋重朗), また, 中枢における液体伝導論的分析 (渡辺千春, 倉品治平, 小林鉄夫), 圧受容器の組織学的検索 (丸山 勇) もなされた.

高木教授が圧・発汗反射から, 体温, 代謝, 筋緊張にまで圧反射の研究を進めようとしたときは, 教室員でさえ, 疑心暗鬼であった. 否定的な意見も少なかった. しかし, 実験を進めるうちに, 次第にその真実性を認めなければならなかった.

圧反射は学会でも注目的になり, 多くの論議をまきおこした. 高木教授の研究は「天馬空を往くが如しである」と評された方があったが, 良い意味にもとれ, 悪い意味にもとれ, 当時の圧反射に対する学会の空気を表わして妙であると思う.

しかし, 圧反射は次第に共感者を増していった. 高木教授は圧反射に関する総説を1950年第5回日本生理科学連合会で「体部圧迫の生体におよぼす影響」と題し, 1954年第55回日本耳鼻咽喉科学会総会で「皮膚圧反射と迷路機能」と題して講演した. また, 雑誌にのせた総説は10指にあまり, 吉井・時実両教授編「筋電図, そ

の臨床的応用」には「圧反射におけるEMGの応用」, 吉井教授, 堀助教授共編の「最新の筋電図学」には「筋電図による反射および潜時の研究」を執筆した

このような圧反射研究の中にあって, その他の研究もあった. すなわち呼吸運動の部位差の解析 (長谷川 渙), 呼吸筋活動 (小口周男), 嚙下呼吸 (油川貞敏), 運動時の呼吸, 循環の促進 (長谷川 弘, 島田久八郎, 太田三郎), 筋の化学受容器 (長谷川 弘, 島田久八郎), ちらつき値による中枢疲労 (今野久治) などがそれである. また, 電気肺臓として Electrophrenic respirator がつくられ (高木), これに高橋久仁男が協力した.

この間, 1950年, 山田達男, 石井公正が相次いで福島県立福島医科大学生理学教室へ転じ, 1951年, 新島 旭が東京医科歯科大学耳鼻科に転じた. なお1952年, 附属医専が廃止された.

1954年1月, 佐藤助教授が長崎大学医学部生理学第二教室に教授として赴任し, 4月, 小林庄一 (新潟医大, 1944卒) がその後任として教室にもどった. 同年9月, 生理学第二講座設置が決り, 順天堂大学教授坂本嶋嶺 (東大, 医, 1918卒) が教授に就任し, 順天堂大学教授を兼ねた. 1955年6月, 高木教授は文部省在外研究員として, ドイツ, ハイデルベルク大学の H. Schaefer 教授の生理学教室に留学することに決った. それを追いかけるように高木教授の名古屋大学医学部生理学第一講座へ転任が決まり, 9月, その後任には東京大学講師内齒耕二 (東大, 医, 1941卒) が決まった. 11月小林庄一は第二講座に移った. 1955年1月, 島田久八郎は東京大学へ出張して, 微小電極法の研究に従事し, 内齒教授着任後の研究上の準備を進めた.

教室では上記の圧反射の研究が続けられ, 小林は高木教授がその存在を予想しながら, 実験成績に欠けていた圧・形成反射の研究に入った (皮膚・肺反射). 高木教授は1955年11月, 名古屋大学教授に併任され, 12月, ドイツへ出発, 翌年4月, 名古屋大学教授 (新潟大学教授併任)

となり、同年10月、ドイツから、フランス、イギリス、アメリカ合衆国を経て帰国し、1957年3月、新潟大学併任を解かれた。

(以上、小林庄一記す、1957)

### 第一生理学教室史

#### 内菌耕二教授の時代

1956年4月、内菌耕二が教授として着任した。着任以来、教室で研究にたずさわったのは島田久八郎、北原実衛、小原昭作、古谷野速



内 菌 耕 二 教 授



小 林 庄 一 教 授

雄、屋井ヒデ子、沢田又一、遠藤三郎、横田力などの助手、研究生、白川義博、佐藤明夫、森田之大、青山新吾、関矢 満、河辺徹夫が大学院学生である。

#### 巨大神経の研究

1956年、東京医科歯科大学の勝木保次教授を班長とする微小電極法に関する総合研究班が結成され、内菌もそのメンバーに加わるようになった。そして、イカの巨大神経の研究に着手すべく準備をはじめた。しかし、まざイカを生かしたままで水槽に飼うことの困難さにぶつかった。イカを飼うことについて、水産関係や動物関係の人々に意見を徴したが、信頼のおけるものは皆無であった。結局、われわれ自身でいろいろ試みしてみる以外にないということが判った。そしてえた結論は教室員自身が船にのって生きたイカを持ちかえるほかに方法はないということであった。

県の水産試験所の調査船銀山丸（100トンならず）が漁場調査に出かけるとき、それに便乗することが許された。目的の一つは生きたイカを教室にもち帰るということ、第二にそれが不可能な場合には摘出した巨大神経を氷冷状態で研究室にもってくることであった。船は夕刻新潟を出、7時頃佐渡沖に達し、夜通しイカ釣りをし、未明に帰港し、5時頃イカと標本が教室に届いた。そして、第1回の微小電極挿入によって見事な巨大神経線維の活動電位がとらえられた。これはわれわれにとって驚喜すべきできごとであった。

その後も、アルバイトの学生たちによるイカ釣りが、2回、3回とつづけられた。やがて、イカを生かしたまま持ってくる必要はないこともわかった。船上で分離した神経を魔法瓶に入れてもち帰るという方法で充分であった。

この年の夏休みに巨大神経線維の実験をするため佐渡にある理学部の臨海実験所に出かけた。しかし、ここは電気生理学的実験には必ずしも好条件ではなく、火力発電に頼る電力事情はよくなかった。交通上の悪条件を克服して、

できるだけ器材を運びこんだ。古谷野と同窓の理学部助手本間義治氏がここの主任をつとめていたことは何かと便宜があった。イカとりには実験所の雇員二人が協力してくれた。しかし、多くの努力にかかわらず、ここでの研究は期待したような好結果はえられずじまいであった。

佐渡での副産物として面白かったのはサメの Thermoreceptor であった。サメはなかなか強靱で水槽の中に永く生きていた。この魚の頭部ことに口や鼻の周りに、すでに知られた特有のぶどうの房を思わせる綺麗な Receptor が数多く見られた。これの活動電流を導出しようと何回か試みたけれども、とうとう成功しなかった。

臨海実験所に滞在中、内菌は白水社から依頼された Chauchard の “Fatigue” を訳し始めた。これは1957年の年末にクセジュ文庫「疲労」として出版された。

巨大神経線維の研究はザリガニについても行なわれた。

これらの研究は微小電極法の手引きやその他 2, 3 の雑誌に発表された。

### 単一有髄神経線維

微小電極法の登場以来、単一線維の研究をわが国で手がける人が少くなりつつあるのではないかという心配があった。わが国はかつてこの方面で世界をリードしていたのである。そこで、教室の古谷野速雄をして東京医歯大の市岡、小西両博士の指導をうけさせた。

折しも、米国で田崎、Frank により新しい単一線維の活動電位の記録法が発表された。細い有髄線維には応用しにくい微小電極法の短所を巧みに解決したすぐれた方法と思われた。方法が複雑で追試もむづかしいように思われたが、何の気なしに微小電極法のプレアンプを利用して試みて見ると、40~50 mV の大きさの活動電位が単一線維からえられた。

これより先、われわれは東北大学電気通信研究所の松尾助教授の援助によって新しい増幅

器を試作した。この増幅器は極めてすぐれた性能をもち、また使い易かった。この増幅器によって、単一線維に関する 2, 3 の業績が生まれた。

### 電子顕微鏡による研究への意欲

1957年頃から電子顕微鏡による神経のいわゆる活性膜の研究が始まった。新潟大学電子顕微鏡室は共有施設ではあったが、きわめて円滑に運営されていた。そして、教室のすぐ隣りに位置していた。ここの主任は高橋善策であった。

まず、巨大神経線維の活性膜が如実にとらえられ、次いで有髄線維の微細構造にも多くの知見を加えることができた。

電子顕微鏡室には各科の資料がみられる。たまたま、泌尿器科の高安教授が研究中の前立腺の切片の中に美事な無髄線維が発見された。この写真は1958年日本にみえた Gasser 博士の目にもとまり、興味を惹かれたようであった。また、第二生理の本間邦則の協力で歯髄の電子顕微鏡的研究も行なった。

### 内臓求心神経その他

1957年5月、しばらく教室をはなれていた新島 旭 (新潟医大, 1946卒) が助教授として教室に復帰した。新島はヒキガエルの各種内臓の機械的刺激による求心衝撃を指標に内臓の求心神経支配の問題を研究した。その一部は1958年第8回医学書院総合医学賞をうけた。

その他、今日まで教室で手がけた研究をあげると、皮膚知覚神経の研究、神経線維の組織化学、抗コリン剤と中枢神経活動、微小電極による心筋、リンパ心臓の研究、腫瘍組織の細胞内電位、ザリガニ光受容器の研究などである。

1959年5月、順天堂大学の懸田教授と内菌との共訳で G. Walter の Living Brain が「生きている脳」として岩波書店から刊行された。これはなかなかの難訳であった。

1959年7月、内菌は C. C. Hunt 教授の招きを受け、向う二年間、College of Medicine, University of Utah の生理学教室に Visiting

Professor としてとどまることになった。

米国滞在中内菌は電気生理学的方法に加うるに電子顕微鏡による方法を併用し、研究を行った。その一部は頸動脈球に関するもので Eyzaguirre と共著で J. of Physiology 誌上に発表されている。なお森田は視覚生理学の研究を進展させるため渡独し、Badnauein. Max Plank 研究所の Dodt 研究室に留学した。

1961年8月内菌は帰国したが、引続いて Hunt, Eyzaguirre, McIntyre らの神経生理学者の来訪があり、教室の研究に刺激を与えた。古谷野は同年10月内菌の招かれたユタ大学の生理学教室に留学し、Eyzaguirre と共同研究を行ない、その結果は頸動脈球に関する数編の論文としてとして発表された。

(以上、内菌耕二，小林庄一記す，1959)

#### 新島 旭教授時代

1962年内菌は東京大学に移り、後任として新島が医学部第一生理学教室を主宰することになった。

1963年春、助手として福田昭子が入局し、小原は東京医科歯科大学生理学教室に転出した後助教授となった。また同年10月2年間の留学を終えて古谷野が教室に戻り、第一生理学教室の

助教授となった。

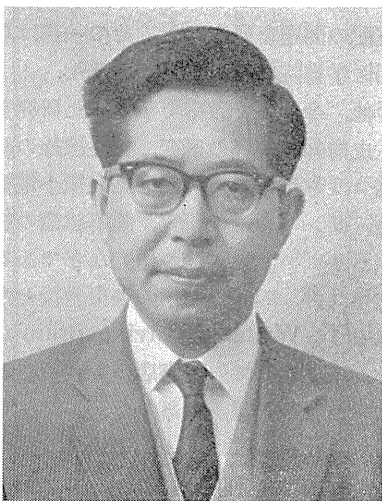
1964年5月屋井は米国オレゴン州ポートランド、オレゴン大学神経外科教室佐藤 誠助教授の下に留学し、主として aplisia 神経細胞について研究を行ない、途中約半年間の帰国期間を除き1968年4月まで同研究室で研究を行なった後、教室に復帰した。1964年6月16日午後1時前、突如大地震が新潟地方を襲った。地鳴りと共に大地は激しく揺れ動き立つこともできないほどであった。ある者はテーブルの下に入り、ある者は戸外にとび出した。教室は木造平家建であったが、棚の上の物が落ちたくらいで意外に被害は少なかった。下町は惨憺たる有様で水道管の破裂、地下水の噴出、海面水位の上昇で水と泥に浸され、コンクリートのビルディングのあるものは数m沈下し、あるものは横倒しとなった。大学は砂丘上にあったため不思議にも殆ど被害をまぬがれた。地震後も交通の混乱は暫く続いたが、研究への直接の障害はなかった。

1965年9月第23回国際生理学会議が東京で開かれ、教室は全員を挙げてこれに参加した。学会後、Eisenman, Trautwein, Delgado, Winter など有名、無名の多くの学者が教室を訪問し1～2カ月は応接に暇がなかった。

1966年8月新島は China Medical Board の奨学金により Winter の主宰するワシントン市、Walter Reed 研究所神経生理学教室に招かれ、1年間主として副腎に存在する各種受容器からの求心性衝撃について研究を行ない、1967年9月始め教室に戻った。

1968年3月、41年間教室に在職し、この間すべての研究者が御世話になった宮野技官が停年で退職した。この頃鉄筋7階建の新研究棟が完成し、4月末第一生理学教室は第二教室と共にその4階に移転し、面目を一新した。

教室の歴史と共に歩んだ旧建物はその後取払われた。4月本間信治が助手として入局し、ヒキガエル交感神経節細胞の研究に着手した。同年8月ワシントン市に開催される第24回国際生理学会議に出席のため新島は7月渡米9月上旬帰国した。



新島 旭教授

1969年は大学紛争に終始した年である。インターン闘争に端を発した医学部紛争は、統合移転問題をきっかけに燃え広がった他学部の紛争と合流し、新潟大学を紛争の渦中に巻き込んだ。7月第一、第三内科教室が封鎖され、11月には生理学教室のある新研究棟にも危険がおよび教室では連日対策を苦慮し、資料の一部は疎開するなど戦時中をしのばせた。

11月23日機動隊導入、封鎖解除が行なわれ、これを契機として紛争は下火となっていった。1970年に至り教室も正常の雰囲気を取り戻し研究ももとに戻った。この年は8月に Iggo, 11月に Winter など研究分野を同じくする数人の外人生理学者の来訪があった。

1960年より1970年に至る教室の研究テーマは、内臓受容器からの求心性衝撃の研究、肝臓からの糖の放出の反射性調節機序、頸動脈球、交感神経節細胞に関する研究、等である。

(以上、新島 旭記す、1971年1月)

## 第二生理学教室史

### 坂本嶋嶺教授、小林庄一教授の研究

生理学第二講座は前記の如く、1954年9月坂本嶋嶺教授の就任により発足した。坂本教授は順天堂大学教授を兼ねていたし、建物も第一講座の建物の一部を借りていたの、教授の研究はほとんど順大で行なわれた。1955年11月、新潟の中心部の大半を焼く大火があったが、大学は全く無事であった。同年11月、第一講座助教授小林庄一が第二講座に移ったが、12月第一講座高木教授外遊にともない内園教授着任まで両教室をかけもちした。当時第一教室に在籍して圧反射の仕事をしていた高館孝司（ニワトリの喉因垂温）、奥山文雄（発毛）、高沢直之（呼吸筋活動）、生垣浩（肺機能）は仕事の関係で、内園教授着任後も、主として小林が指導にあたった。

1956年6月、第一講座の建物から、それまで薬学研究室が使っていた建物に移った。この建物は手狭で戦後の建物であり、かつ生理学の研



坂本嶋嶺教授

究には必ずしも向いていなかったが、予算などの隘路を克服して、生理学の実験に使えるよう改変を加えていった。

1956年9月、坂本教授が職を辞した。北原実衛は、鼻粘膜温について圧反射および体温調節の面から研究した。沢田又一は光電プレチスモグラフによる皮膚容積脈波の研究を行ない、高橋久仁男が協力した。

小林は前記皮膚肺反射の研究から、肺の筋-神経系の比較生理に入っていた。両生類の肺にある豊富な平滑筋組織の研究（土屋昭一）、それに対する自律神経剤、 $O_2$ 、 $CO_2$ の作用（依田税；小林；高橋）、その自動収縮（小林、土屋、高橋）などの研究が行なわれ、両生類肺筋は、哺乳類の肺筋筋の原形とみなされた。依田はまたヒキガエル肺の血管運動を調べ、また、数人の学生が肺微細血管の形態を調べていた。一方、皮膚圧迫と毛の生長（奥山）の仕事から歯牙の生長、萌出に対する神経性の影響（本間邦則）など圧-形成反射に関する研究が行なわれた。

1958年4月、小林庄一が教授に昇任した。小林、北原はウサギの肺温、呼吸気温の研究から呼吸器における熱放散は気道で行なわれ、肺胞における熱交換の極めて少ないことを確めた。

1958年6月、島田久八郎が第一教室から移

り、肺筋の物理的性質、神経支配から、肺伸展受容器の興奮機序にすすんだ。一方、肺筋に関する組織学研究（古屋周治）がなされた。島田（新潟医大、1952卒）は、1959年7月、助教授となった。

1960年関川徹が入局し、阿部啓二、大塚為和が大学院学生として入学した。1961年小林はSchneider 教授の招きで、西ドイツ、ケルン大学へ赴き、イヌの分離頭部灌流による脳 Hypoxia の研究に着手したが、健康を害し、途中帰国せざるをえなくなった。

この頃行なわれた皮膚-自律反射の研究としては次のものがある。

顔面皮膚の触・冷刺激による呼吸反射の研究から顔面皮膚刺激（強風などの）によるいき苦しさが反射性呼吸抑制によることを確かめ（関川）、一方、また三叉神経の化学刺激が肺温の反射性低下を来すことを見出し、これは星状神経節を通る交感性の肺血管の収縮であると考えられた（阿部）。大塚は将来腹部外科を志望し、腸雑音の本態を調べ、腸雑音は約 500 Hz、持続約 10 msec の単位音の集まりであることを明らかにし、多彩な音の分析に路を開いた。

島田助教授は迷走神経呼吸反射という古くて新しい問題にとりくみ、肺の拡張とともに頻度の変化する帰還適応刺激法を用いて、肺迷走神経求心衝撃は呼吸中枢の吸息性活動にも呼息性活動にも常に抑制的にはたらいていることを明らかにした。

1964年6月、新潟地震がおり、市街には大きな被害があったが、教室は全く無傷であった。

1965年4月、川崎了二、佐々木（安達）智恵子が入局し、川崎は島田と共に呼吸中枢ネロン活動に対する迷走神経衝撃の効果を、佐々木は小林とともに、いきこらえの Breaking point について研究した。

1965年夏、東京での国際生理学会の関連行事として、内外学者による「いきこらえ潜水の生理学と日本のあま」のシンポジウムが開かれ、小林がこれに参加した。最も単純にみえるいき

こらえ高速潜水の問題点が論議された。

1966年、Londonに本部をもつ International Biological Programme の日本部会の「ヒトの適応能」分科会（JIBP-HA）で、「あまの適応能力」の研究を行なうことになり、小林がその班長となった。この「あま」班は、1968年に「水中作業者の適応能力の研究」班として、発展的改組をし、あまから海中居住までの広範囲の水中作業へのヒトの適応にとりくみ、現在に至っている。この研究に関して、当教室では志摩での現地実験、教室での基礎実験を併行して、あま・水中作業者の呼吸・循環、体温調節機能の研究が行なわれている。

1966年9月には、小林は新設の歯学部の口腔生理学講座の教授に併任され、同年8月、すでに当教室から移っていた島田助教授とともに翌年3月まで、口腔生理学教室の設営につとめた。島田助教授の後任としては名大第一生理講師小川徳雄（名大、1928卒）が11月着任した。

小川助教授は体温調節生理学、ことにヒトの汗腺の活動と局所皮膚温、閾下発汗神経活動、アドレナリン性発汗の意義などについて研究を進め、また、1967年には前記 JIBP-HA 分科会の「耐熱性、耐寒性の分析とその測定法」班の研究分担者として、暑熱刺激に対する汗腺活動の応答性と耐熱性との間に密接な関係があることを認めるなど、主に汗腺の活動性の面から耐暑性について研究している。高橋（石川）史子は、1966年4月入局、「耐熱、耐寒」班の研究の一環として、新潟地区住民の基礎代謝の年間変動を調べ、それが冬高夏低型を示さないことを認めた。1967年4月寺田竜史が入局、呼吸運動の部位による位相差を調べた。

1964年頃より呼吸の比較生理の研究も行なわれ、カエル、ニワトリの換気について分析を進め、現在は川崎がニワトリ、魚について換気の神経調節を中心に研究している。安達は換気調節と体温調節の接点として熱性多呼吸について研究を進めている。

1969年4月、鉄筋7階建の新しい研究棟の二期工事が完成し、改修を重ねながら十数年を過

した敗戦直後の木造の建物から、その4階に移った。

小川は、1969年6月文部省在外研究員として、米国 Indiana 大学に赴き、闕下発汗神経衝撃に由来する発汗波の特性、汗腺活動に影響する局所条件について研究し、1970年9月フランス、リヨンで開かれた国際体温調節シンポジウムに出席して帰国した。

この間、全国的な大学紛争に新潟大学も無縁

ではなかった。以前から各学部内の問題としておこっていた大学改革の波は1968年、県内3市に分散している学部を新潟市に移転統合するという問題を契機に全学の問題となった。医学部でも一部の教室が封鎖され、新研究棟もその渦中に入る危険が生じたりして、教室の機能にも幾多の影響を与えたが、1970年に入ると一応の平静を取りもどし、機能もほぼ正常になった。

(以上、小林庄一記す、1971年1月)

附記：新潟大学医学部はその沿革によれば明治3年(1870)にはじまる、約100年前のことである。新潟医学学校の創立は1879年ということだが、その当時のわが国の事情からであろうが、一時廃止された。そして明治43年3月(1910)に官立新潟医学専門学校が生まれ出た。千葉・金沢・岡山・仙台・長崎の医学専門学校の創設と前後して、これが新潟大学医学部の母体となったことがわかる。

藤田敏彦教授が生理学を担当し生理学教室が生まれた。私どもの恩師橋田邦彦教授はその令弟である。わがくにで兄弟が生理学者になったことは他にその比をみない。ともにわがくにの生理学の開拓者である大沢謙二教授の弟子である。ヨーロッパなどでは兄弟で、また親子二代が生理学者であったことはその例少くない。

しかしわがくにのように学問する者を重くみなくにで、兄弟が生理学者になったということはよく考えてみなければならぬことであろう。根本的には生理学を共に好きで愛していたからであり、また大沢謙二という生理学の開拓者のもとで生理学をやらうとしたからである。それをよいことにして、わがくにが、生理学・生理学者を今までのような状態にしておくことは、わがくにの文化の創造を阻害し、わがくにの生理学者が世界の文化創造に寄与することに妨げになっていることを深く省うべきであろう。世界のすぐれた国々と同じように思う人があれば、それは外見から生じた錯覚である。

私は大正11年7月(1922)に東京大学で開催された第1回生理学会総会で藤田・橋田両教授にそれとなく御目にかかり研究報告をきくことができた。私はまだ学生だったから、研究報告の内容はよくわからなかった、50年前のことであるが、昨日のように

思われる。

第1回生理学会総会には生理学・薬理学・生化学の学者が共に研究発表を行なった。2日間で約80題が報告されたかと思うが確かではない。薬理学会・生化学会がまだ生まれていなかった関係であったからのように記憶しているが調べてみないとわからない。第1回生理学会総会が開催されるまでは、4年に一度の日本医学会総会の一部として研究発表がなされていたという。

第1回の生理学会総会の印象の二、三を記してみようと思う。大沢謙二教授はその時ゴンズイの針という題でユーモアのある話しかたをした。鎌倉の海でゴンズイが網にかかると、漁師はその針に刺されるのを恐れて「ゴンズイだ、ゴンズイだといって海になげる」というような調子で話された。

京都大学の石川日出鶴丸教授は神経の興奮伝導について述べ、ピラを扇子でポンポンたたきながら早口で述べられたのであったが中味は私にはさっぱり判らなかつた。その頃はまだ slide や cinema を用いるにはなかつた。

藤田教授の discussion される態度が丁寧であつたので、野人である私にはその上品で紳士的な様子が忘れられない。橋田教授の鼻メガネも印象的であつた。第1回のころ藤田教授は佐武安太郎教授とともに東北大学教授であつた。私は第3回生理学会総会が大正13年(1924)東北大学で開かれたとき浦本政三郎教授とともに出席した。東北大学の生理学実習室が実によく整備されているのを見て手本にしなければと思った。後に、藤田・佐武両教授によって著わされた生理学講義上下2巻が名著であるのは誰もが認めている。これによって両教授の丹念な講義のほどが知られる。

横田武三教授の時代に新潟医専が新潟医科大学となった。そして1932年に第11回生理学会総会を主宰された。福原 武博士の腹窓法による平滑筋で形成されている器官についての研究は cinema を併用した卓れた研究であるがそのころ発表されたと思う。横田教授が probability の話をされたのは別のときだったが記憶に新しい。

横田教授の後は1945年5月高木健太郎が教授に迎えられた。併しその年の7月には生理学教室の間引き疎開があった。いくさのためである。高木教授はドイツでの研究もしたが、研究は多方面について行なわれた。そのうちで圧反射についての系統的研究は新潟の生理教室をあげて展開された。

1947年に教室は新築され、また大学院を新設するため坂本嶋嶺博士を順天堂大学教授のまま迎えた。坂本さんは東京医科歯科大学教授、東大教授に次いで順天堂医院の佐藤達次郎院長との関係などから順天堂大学の教授となっていた。坂本さんについては東京医科歯科大学および順天堂大学の生理学史の中で記してあるが、わがくにの生理学者として独自の研究の場に集中した稀にみる personality の学者であったことは知る人ぞ知る。

生理学を二講座にする必要から東大生理から教授に内藺耕二が迎えられ、本文にある研究をしたが、アメリカのユタの大学の Dr. Hunt に招かれ、そこで電気生理学とともに電子顕微鏡による研究を行なった。これは生体のはたらきと微細構造を表裏一体とする idea によるもので、これはイギリスの生理学の特色である。構造すなわち機能、機能すなわち構造ということを実現するにあったといつてよい。

新潟大学の生理学研究は本文で明らかのように歴代の教授の idea と自ら研究したからであるが同時に歴代の助教授・講師・若い助手と研究員の協力があつたから研究が具体的になったのであることはいうまでもない。

本文にも記されているが、福原 武博士ならびに高木健太郎博士、その協力者達の研究は新潟大学の生理学を学界に重からしめた。私は両博士よりも前から生理学の研究をしてきたのと、また、両博士の新しい研究には、深い関心をもってきた。

なお現在小林・新島両教授の研究は進行中であるからここでは触れない。

(以上、内山孝一記す、1971. 10. 15)

## 〔書評〕

池田嘉平, 稲葉明彦監修  
 広島大学生物学会編

### 日本動物解剖図説

(森北出版株式会社, 定価 3,500円, 1971)

### Ed. Kahei Ikeda Dr. Sc. and Akihiko Inaba Dr. Sc. Illustrated Animal Anatomy

日本医科大学第二生理学教室

高橋 恵

図説には, シロネズミからゾウリムシまで42種の動物(脊椎9, 無脊椎33)の精細な解剖図が113図版(頁)に納められ, 各対頁に, 簡潔で要領の良い説明(主として解剖名)が加えられている。

例えば, シロネズミでは, 解剖全形, 消化・代謝系, 血管系, 心臓, 神経系, 泌尿・生殖系各1, 骨および筋系各2, 計10図版, ドバトでは7, シマヘビ3, イシガメ2, ヒキガエル11図版等である。1図版は1ないし多数の図から成って居り, 説明もそれに対応しているわけである。

図は, 要点をおさえた精細な手描き原図がアート紙に鮮明に印刷されて居り, 望みうる極限に近いものと考えられる。説明(解剖名)は, 日本語とラテン語, 英語とで対照的になされて居り, これは——図説が国際的に役立つようにとの意図からなされたようであるが——われわれが生理学の研究をする上にも大きな便宜である。

図版において, 説明のための引出線の起始部が時に不明瞭である点のあることが(実用上には殆ど問題でないが) 難といえ難であろう。これは, 写真製版技術上の問題であろうから, 折角の原図を生かすためにも一層の改善を望みたい。

生理学の仕事が適切な動物の選択によって著しく進むことはここに述べるまでもないことであるが, これに従事している研究者(ことに医科出身者)には, 一般にこれに対する関心・知識が少く, それだけ研究の発展が阻害され易い。この図説は曾っての広島大学動物学関係学生諸君の労作を基本にしたもので, 前述のように幅広い解剖図を扱っているものであるから, これから直ちに必要な研究対象を選択することは困難と考えられるけれども, これがそのために大きな便宜, 手引きとなることは間違いないと考えられる。1教室に1冊をそなえて, 教室員が随時参考できるようにお願いしたい。

C. J. Heath and E. G. Jones

### The Anatomical Organization of the Suprasylvian Gyrus of the Cat

(Springer-Verlag, 1971)

京都大学霊長類研究所

時 実 利 彦

このモノグラフ(64頁)は, *Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte*の叢書のなかのBand 45-Heft 3である。著者のHeathはUniversity Laboratory of Physiology, Oxford,

Englandに, JonesはDept. of Anatomy, University of Otago Medical School, New Zealandに所属している。

最近, ネコのシルビウス上回の研究が, 視覚や

聴覚はもとより，“polysensory area”として多大の関心をあつめているが、それらの機能とシルビウス上回りのなかの小区画との関係についてはまだ明らかにされていない。このモノグラフは、Nauta 染色法によって、シルビウス上回の各小区画と視床核との線維結合、さらに、反対側の半球のそれとの線維連絡や、ほかの連合野や辺縁皮質

との間の解剖学的関係について調べた結果をまとめたものである。さらにまた、サルのシルビウス上回りの比較もなされている。感覚の中樞機序の神経生理学的研究者にとっては、非常に参考になる書物である。その分野の研究には一読をすすめたい。

**Edward I. Goldsmith and J. Moor-Jankowski (ed.)**

**Medical Primatology 1970**

(S. Karger, 1971, \$67.20)

京都大学霊長類研究所

時 実 利 彦

この書物は、Proceedings of Second Conference on Experimental Medicine and Surgery in Primates, New York 1969という副題でもわかるように、その学会で発表された論文の抄録集である。101題（1題は約10頁）におよぶ抄録が集められているので、1,000頁近い大部のものになっている。8題がアメリカ以外から出題されている。したがって、アメリカにおける医学に関係した霊長類学の研究の動向を知るのには便利である。次の11のセッションにわかれている：Man and Nonhuman Primates, Immunological Response ; Experimental Transplantation in Primate Ani-

mals ; Comparative Biology, Genetics and Phylogenetics ; The Nervous System, Man and Non-human Primates ; The Nervous System, Perinatal Biology and Development ; Behavioral Physiology ; Reproduction, Perinatal and Development Studies ; Virology ; Infections Diseases ; Reports from Major Primate Laboratories and Current Programs. 最近日本でも、医学の分野で、サルが実験動物として盛んに使われるようになってきているので、高価ではあるが、サルを使っている研究室には是非備えておくべき書物である。

[会 報]

### 第7回 J. J. P. 編集委員会議事録

日 時：昭和46年11月13日（土）午前10時～12時

場 所：好仁会会議室

出席者：吉村寿人、井上 章、勝木保次、名取礼二、藤森聞一、松田幸次郎、時実利彦、真島英信

出版会 山田、野溝

1. 前回議事録について。原案のうち3の1)を「レフェリーから J. J. P. の投稿原稿の質的向上について編集委員会にて考慮するよう要請があり、その配慮方を常任幹事会にお願いする」、3の2)の Editor の補充の分野に一般生理を追加する、の2ヶ所を修正の上承認した。

2. 原稿審査について。原稿審査状況について説明ならびに報告があり、Vol. 21, No. 6 掲載論文を確認した。

3. 編集方針等について

1) 編集委員補佐として、伊藤真次（北大医）、入沢 宏（広島医）の両氏に就任をお願いする。

2) 却下論文は編集委員会にて決めることを原則とするが、時としては、委員長の裁断でもよいのではないかと、との意見があった。

3) 謝辞は本人の承諾を受けてから述べるということが望ましいという意見があったが、投稿規定としては不自然であるので、このような点を含めて、従前よりの J. J. P. の編集に関する総括を委員長がまとめ、生理学雑誌に掲載することにした。

4) 従前までのレフェリーの名簿が報告された。

#### 4. 速報について

従前より J. J. P. に速報を掲載するよう要請があるので、真島生理学雑誌編集長の意見を元に討議した。現在生理学雑誌に月1～2編の投稿があり、distributionの上からは J. J. P. に掲載されることが望ましい。また、J. J. P. に速報をのせることは、それ自体意味があることが認められるが、(次のような問題点が出され) 編集委員会の体制がとれるかどうか、経済的に東大出版会の support がえられるかどうかを検討することを含めて、時期をまつことにした。

### 第8回 J. J. P. 編集委員会議事録

日時：昭和47年1月22日 午後2時～5時

場所：学会センタービル会議室

出席者：吉村寿人、井上 章、勝木保次、名取礼二

出版会 山田、野溝

1. 前回議事録について：原案どおり承認された。

2. 原稿審査について：原稿審査状況について説明ならびに報告があり、Vol. 22, No. 1 掲載論文を確認した。

3. 編集方針等について：

1) Key word は生理学雑誌で作った後、考えることにした。

2) Vol. 1～Vol. 20 の総目次および Author

Index を Vol. 21 の巻末に入れることについて、討議されたが、内容的に分類するかどうかについては、J. Physiol. を参考にして、次回に検討することにした。

3. その他：Summary が長すぎるものがあるので250 words 以内にまとめるようにしたい。

引用文献の abbreviation の統一をはかるようにする。

### 基礎生理学研究所設立準備委員会

#### 第3回仮運営委員会議事録

日時：昭和47年1月29日(土) 午後6時～8時30分

場所：東京慈恵会医科大学 高木会館5階会議室

出席者：井上、内藤、大村、勝木、菅野(義)、岸本、高垣、高木(健)、田崎、塚原、中尾(健)、中尾(真)、名取、八木、亘 各仮運営委員  
事務局(岩崎、柳沢)

司会 勝木保次所長予定者

1. 第2回仮運営委員会議事録案が承認された。

2. 設立運動の経過報告

第2回の委員会以後の対外接渉、その他設立運

動の経過について、勝木所長予定者が報告した。

3. 研究員候補者の推薦について

1) 設立準備運動の進捗と合わせ、本研究所発足時の研究員候補者の推薦とそのリストをうる事が現在緊急になったこと、したがって仮運営

委員会規程, 第3項 1) および第2回仮運営委員会議事4の1)に基づきこの件を議題としたことについて勝木所長予定者より説明があった。

2) 今回の委員会開催通知に述べられた, 推薦に関する記述について, 全委員の理解がそろっていなかったので下記の通り第4回仮運営委員会を開いて再審議することとなった。

3) 候補者推薦についての申し合わせ事項

a) 研究員 1) に対する候補者とし, 今回は教授, 助教授の区別をつけない。

b) 設立案 (1971, 12) 8-9頁所載のどの部門に該当する候補者であるかを記載する。

c) 候補者として名前を出すことについて被推薦者の承諾の有無を記載する。

4) 主課題「感覚情報」に関するすべての分野の研究者の総リストを作ってはとの提案がなされ, 引続き審議されることになった。

〔記〕 第4回仮運営委員会 昭和47年2月19日  
東京医科歯科大学医学部ゼミナール室において。

### MEDLARS 検 査 文 献 資 料

上記の資料は生理学会事務所 (東京都文京区本駒込2-28-21 東洋文庫内 電話 (03)945-2840) に保管してありますから閲覧をご希望の方はご利用下さい (貸出は致しません)。

なお同じ資料が京都大学医学部生理学教室品川

助教授 (京都市左京区吉田近衛町 電話 (075)771-8111) の所にもあります。閲覧ご希望の方は予め品川助教授に閲覧に行く日時を連絡の上お願い致します。

#### 編 集 委 員

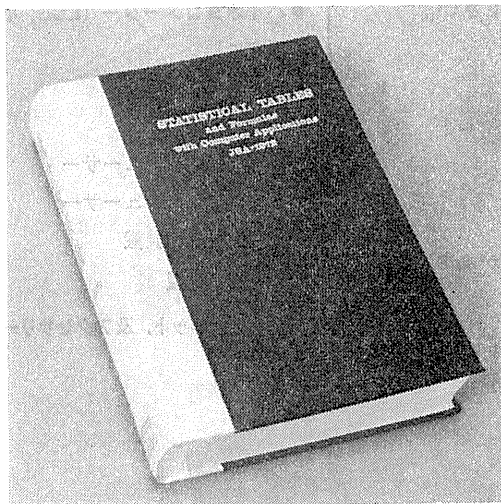
真 島 英 信 (幹 事)	市 岡 正 道	菊 地 鎌 二
高 垣 玄 吉 郎	戸 塚 武 彦	鳥 居 鎮 夫
島 山 一 平	望 月 政 司 (北海道)	星 猛 (東 北)
新 島 旭 (関 東)	東 健 彦 (中 部)	品 川 嘉 也 (近 畿)
入 沢 宏 (中・四国)	栗 山 照 (九 州)	

研究・作表に8年半 世界に誇る統計数値表

# 統計数値表

JSA  
1972

STATISTICAL TABLES and Formulas with Computer Applications



A 4判 本文 750ページ  
(特漉上質紙使用)

表紙 背皮・本麻布張り / ケース入  
定価 22,000円 千500 (書留料共)

## ● 本書の特色 ●

- 1 正規分布表などの基本的な表をはじめとして、多変量関係、トランケーション・センサード関係、ノンパラメトリック関係、非心分布関係などの数表を整理し、もれなく収録してあります。
- 2 すべての表は、計算のための近似式から十分な検討がしてあり、かつ表の配列、引数のきざみ、けた数などについて、使いやすさ、精度、見やすさを考えて整理してあります。
- 3 近似式やコンピュータのプログラムのチェックに使用できる正規分布の上側確率有効35けたの表をはじめとして各種の表を収録してあります。
- 4 表の校正は、最終的にコンピュータによるサムチェックを行ない、正確さを期しています。
- 5 表とは別に解説が収録してあります。解説は、コンピュータの利用を考慮して、おおむね次の内容をもっています。
  - a. 計算のための種々の近似式と、その誤差
  - b. 使用例 (検定・推定などにおける使い方)
  - c. 他の分布との関係、補間法
  - d. その他のおもな数表および参考文献
- 6 付録として正規分布など基本的統計分布のパーセント点および確率積分を有効10けた以上正確にアウトプットできるような汎用性あるプログラムを収録してあります。

## 統計数値表編集委員会編

委員長 山内二郎 東京大学名誉教授  
副委員長 浦昭二 慶応義塾大学教授  
副委員長 奥野忠一 農林省農業技術研究所・調査科長  
委員および協力者：40名

## 本書のすいせん者 (50音順・敬称略)

石川 馨 東京大学教授  
北川 敏男 九州大学教授  
曾田 長宗 国立公衆衛生院長  
林 知己夫 統計数理研究所第二研究部長  
一松 信 京都大学数理解析研究所教授  
増山 元三郎 東京理科大学教授  
美濃部 亮吉 経済学博士  
森口 繁一 東京大学教授

☆ カタログご希望の方は、本誌名を明記の上、当協会へハガキでお申し込みください。

〒107 東京都港区赤坂4丁目1-24  
電話 (03) 583-8001 振替・東京195146

日本規格協会 支部：札幌/仙台/名古屋/大阪/広島/高松/福岡

# 生理学用研究装置

米国NARCO BIO-SYSTEMS社

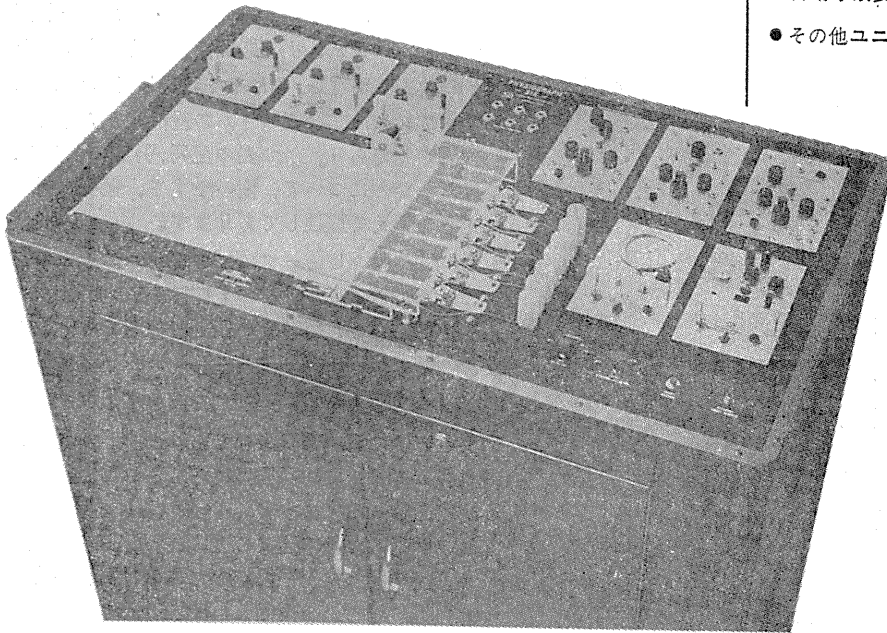
米国NARCO社(旧名E & M Instrument Co.)は、メーカーとして、広く各大学はもとより各研究所において利用されています。本装置類は各機種、ユニットシステムで構成されていますので、研究の必要に応じて選択していただけます。尚、レコーダー、各ユニット、アクセサリーを非常に豊富に用意してございますので総合カタログを御請求下さい。

## 主要品目

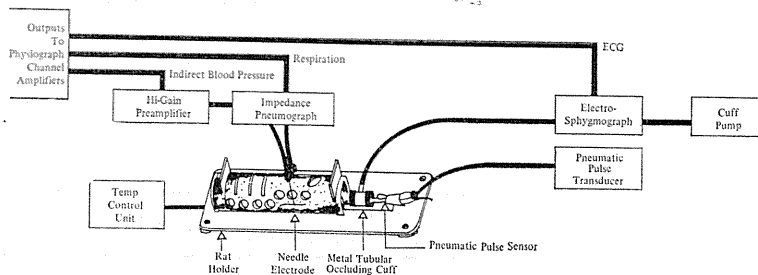
- スモールアニマルスタディユニット  
(諸動物の直接的、間接的自動血圧測定器、ECG測定、呼吸測定、体温測定、心拍測定を同時記録)
- 電磁式血流計
- バイオタコメーター (ECG、心拍数測定に)
- 滴数計
- 電撃刺激装置
- 等張性トランジューサー
- 等尺性トランジューサー
- テレメトリー装置
- 自動呼吸装置
- その他ユニット、及アクセサリー関係

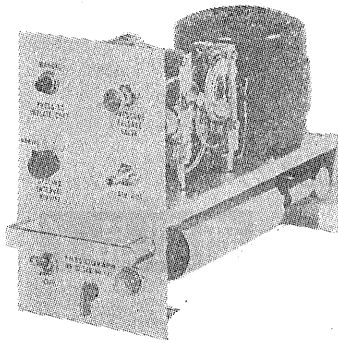
## ■ 6チャンネルレコーダー (キャビネット型)

(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)



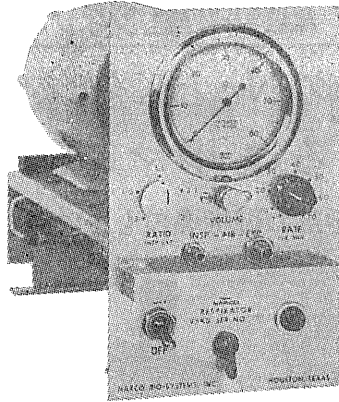
## ■ スモールアニマルスタディユニットシステム





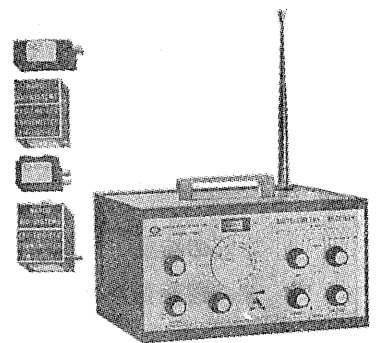
**■自動カフポンプ装置**  
(100mmHg~300mmHg)

- サイクリングタイム：30秒、60秒、120秒～



**■自動呼吸装置**  
(V5KG型)

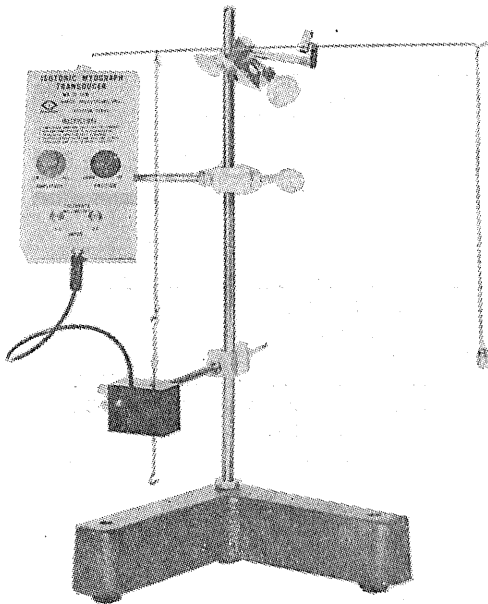
- 呼吸相比 (1 : 3 - 3 : 1)
- 呼吸回数 (7~70回)
- 換気量 45cm<sup>3</sup>/sec~500cm<sup>3</sup>/sec



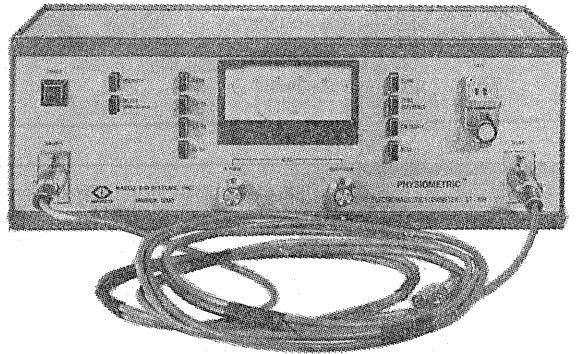
**■テレメトリー装置**  
(FM-1100-7型)

- 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//

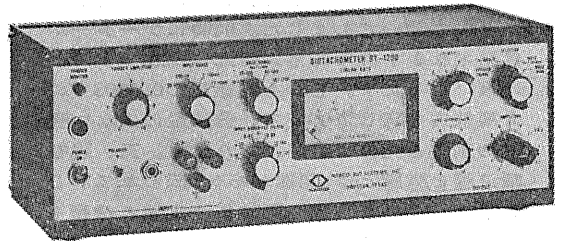
**■等尺性トランジューサー**



**■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)

# 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

$$\begin{cases} \text{Na } 1\text{mEq}/\mu\text{l} \times 10^{-3} \\ \text{K } 1\text{mEq}/\mu\text{l} \times 10^{-3} \end{cases}$$

#### 2. 稀釈操作不要

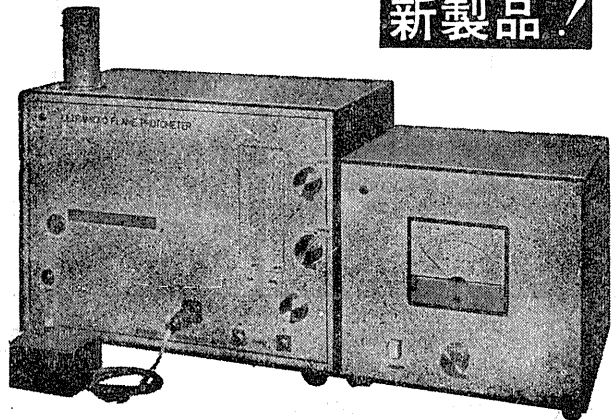
#### 3. Na, K 同時測定

#### 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



**新製品!**

### 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!

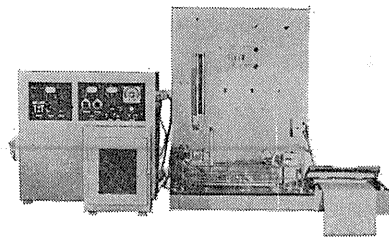
## 体液流量測定装置 SS-NS-1型

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。同時にデーター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 $0.0003^{\circ}\text{C}$ 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。

仕様書・文献進呈

### 〔装置仕様〕

- ◎測定能力 最小 $0.0003^{\circ}\text{C}$ ~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×高さ700×奥行400  
重量 約40Kg



科学研究用機器



研究・設計・製作

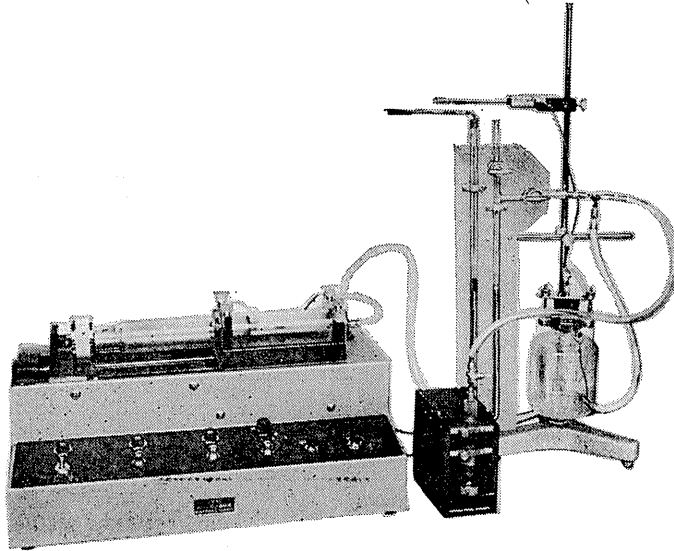
株式会社 **柴山科学器械製作所**

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

HAFFNER法

# 鎮痛効果測定装置

実中研 医学研究所 御指導

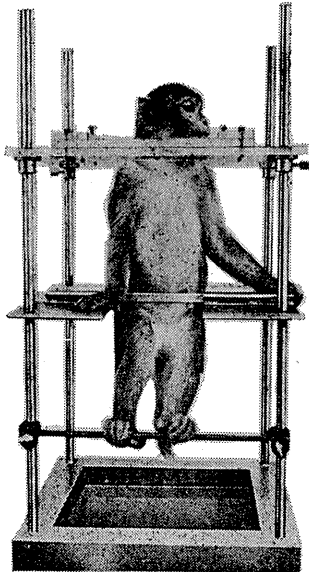


本装置は機械的刺激によるマウスの仮性疼痛反応閾値上昇から薬物の鎮痛効果を測定する装置であります。

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3kg～6kg迄使用可能です。
- 汚物を取り出す引出しが下部後方に付いています。
- ステンレス製 上部はアクリル盤

### 特別附属品

- チェヤ固定盤 600×600×21mm (木製)

### 特別附属品

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

### 使用目的

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

**KANO** 株式会社 野上器械店

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

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 34 No. 3 (1972)

**Review**

NISHIDA, I. and MURAKAMI, T. : Mitosis regulating substances extracted from animal tissues.....131

**Original**

OKAMOTO, U. : Proactivator-activator system in human plasma fibrinolysis : Studies on the synthetic fibrinolytic system composed of functionally pure fibrinogen, plasminogen and proactivator, separated from human plasma .....147

昭和四十七年二月二十日印刷

編集兼  
発行人

真島英信

東京都文京区本駒込二丁目二番八号  
日本生理学会 新館三階

印刷者  
印刷所

山形県鶴岡市山王町一四の二四

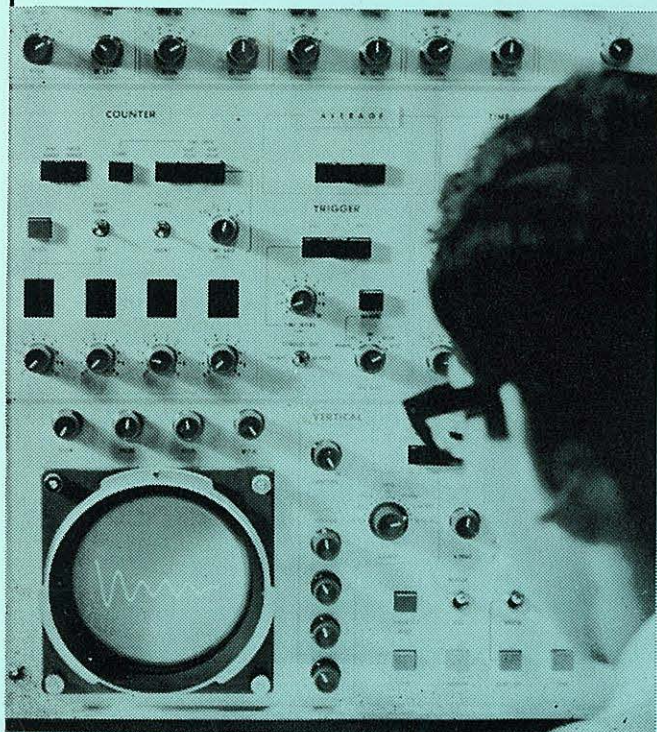
三浦経夫  
鶴岡印刷株式会社

発行所

〒一三三  
東京都文京区本駒込二丁目二番八号  
日本生理学会  
東京文庫

電話  
替  
價  
東  
京  
参  
八  
六  
百  
四  
三  
〇〇  
九  
四  
五  
一  
二  
八  
四

# 生体と情報処理技術をON-LINEで結ぶ



ア タ ッ ク  
**ATAC**

 NIHON KODEN

**データ処理用電子計算機**  
ATAC-501-20

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

\*カタログ、使用例集お送りし  
ます。

**日本光電工業株式会社**

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