

日本

# 生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

36巻 5号 1974

原 著

- 別府穂積：筋収縮に対する Ringer 液組成変化及び陽イオン置換の影響について……………163
- 山本順一郎，永松陽子：Lysin-Sepharose chromatography による大分子量  
plasminogen proactivator の低分子化……………176
- 松本政雄，北村奉正，半場道子：神経の不应期，過常期に関する研究（I）坐骨神経と  
電気的神経模型の不应期の比較……………186

短 報

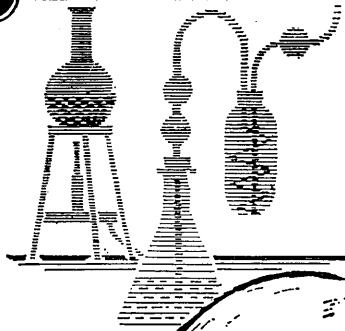
- TOKURA, H. and SUGIYAMA, K.: Sweating in cynomolgus macaque (*macaca fascicularis*) exposed to ambient temperature of 40°C ……………199

- 書 評 Cerebellar Cortex: cytology and organization (高比良英輔) ……………201

- 会 報 学会事務局よりのお願ひ……………202

日本生理誌  
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



## ラット Donryu

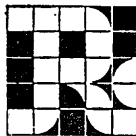
### 特長

- (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。

ドンリュウラット T.D 967394  
Donryu-rat T.D 995227

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

## 筋収縮に対する Ringer 液組成変化および陽イオン置換 の影響について 612.741 : 612.014.463

別 府 穂 積 (信州大学医学部順応医学研究施設)

**Effects of the change of ion concentrations in Ringer solution and the cation replacements on the contraction of muscle fibers** Hozumi BEPPU (*Department of Adaptation Physiology and Biophysics, Institute of Adaptation Medicine, Shinshu University, Matsumoto*)

Effects of cations in Ringer solution and the similar cations replaced with the normal components were examined, mainly, on the contraction patterns of the skeletal muscles of bullfrogs.

1. A  $10\times$ NaCl Ringer induced contractures, and the tension of a ca. 500 fiber preparation was  $159\text{ g/cm}^2$ .
2. Every sample, except the preparations thicker than 500 fibers, showed a decrease in contraction heights within a few minutes after the  $2\times$ NaCl-Ringer replacement.
3. Contraction heights of the twitch curves decreased within a few quarters of an hour after the  $1/2$ NaCl-Ringer replacement.
4. In a  $10\times$ KCl-Ringer solution, no contractures were observed. An additional KCl of 10 to 20 mM did produce contractures.
5. A decline in contraction was observed in  $1/2$  to  $1/10$  KCl Ringer, but the decline was less than that in high-potassium Ringer.
6. Contraction heights increased gradually by the application of high- as well as low-calcium Ringer. Prolonged relaxation was especially noticed after low-calcium Ringer application.
7. Monovalent cations, Li and Rb, were respectively good substitutes for Na and K.
8. Divalent cations, Ni and Ba, showed unfavourable effects on contractions, but Mg was substituted with Ca though for a short period.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1974) 36, 163-175〕

**key words** : monovalent cations, divalent cations, contraction.

### I. 結 言

骨格筋の収縮は、従来、次の如く四つの基本的な型に分類されている。すなわち、収縮の様式は、(1) 単収縮、(2) 強縮、(3) 拘縮、(4) 局所収縮の4種類に分けられている。ところで、また別の見地から、収縮を記録させる方法の相異に基づき、収縮を等張性収縮と等尺性収縮の2種類に分けることも、一般には行われてきた<sup>20)</sup>。しかし、それらの収縮様式は、厳密に言えば、等張性収縮の場合でも必ずしも全期間中等張性であるという訳ではなく、その収縮はただ一端固定式の収縮であり、等尺性収縮の場合にも部分の長さに関しては等尺ではなく、両端

固定式の収縮であるということが言えるにすぎない<sup>36)</sup>。また、収縮を、その原因、記録方法などとは全く別に、新しい見地から現象論的に考えて、骨格筋の収縮弛緩波形を分類し、その波形が変化する群は、4種類存在することを、上田、別府等は先に報告した<sup>35)38)</sup>。その分類基準に用いた変数は、収縮高 ( $X$ )、平均収縮速度 ( $\dot{X}_c$ )、平均弛緩速度 ( $\dot{X}_r$ ) 等である。さらに、 $\dot{X}_c$ 、 $\dot{X}_r$  を縦軸とし、横軸を  $X$  とし、 $\dot{X}_c - X$ 、 $\dot{X}_r - X$  の位相平面でみると、従来の  $X$  のみでみる方法より詳細に状態が把握される。この方法は物理学的にはすでにしばしば応用されている。

Ringer 液陽イオン濃度変化の影響および、置換イオンの影響については、先に簡単に言及したので<sup>6)</sup>、今回はその結果をより詳しく述べ、さらに若干の知見ならびに考察を加えるこ

ととする。

## II. 実験方法

実験は、200 ないし 220 g の雄の食用ガエルの筋を材料とし、20°Cより30°Cの室温の下で行われた。脊髄破壊後、背位に固定し、皮膚を開き、*M. sartorius*, *M. semitendinosus*, *M. rectus abdominis* 等の標本を剔出した。剔出後、標本は、冷蔵庫 (5°C) に保存された。ただし、保存用の Ringer 液の組成は<sup>14)</sup>、NaCl 117.4 mM, KCl 2.0 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.0 mM, Tris buffer 10 mg で、pH は 7.4 である。もちいた筋標本は、全筋または、30本、100本、500本前後の太さに分離された筋線維群である<sup>5)</sup>。実験装置は、日本光電 VC-7 oscilloscope で、MSE-40 (電気刺激装置) を trigger し、pulse に一定の delay をかけて、isolator を介し、筋の両端に通電した。Tetanus に関しては、刺激の強さ、頻度、pulse 巾と、tetanus 刺激時間の長さを定量的にセットし、その影響を記録することとした<sup>7)</sup>。また、増巾器は、日本光電 MP-3 A, ADH-2 を用い、レコーダーは高速および普通速レコーダーを使用した。温度条件を特に一定にするためには、シャープ製品の冷却装置 TE-10 も併用した。

張力曲線は、筋の末梢端を、日本光電 SB-IT (力電気変換装置) のピックアップに連結し、中枢端を固定し、ほぼ、isometric の条件で記録された。液交換の前後の状態を観察する場合、固定部から標本を斜上方に張り、固定端には被覆した刺激電極をおいて、電流滑走を防ぎ、他の一端の電極は、僅かに液面より上に出た標本の一部、すなわち、液面の外側に置いて刺激を行った。

初めに、Ringer 液の組成変化の際に、収縮波形がどのように変化するかについて検討したが<sup>4)5)37)</sup>、用いた溶液は、1) 脱 NaCl Ringer 液、2) 1/10 NaCl Ringer 液、3) 1/2 NaCl Ringer 液、4) 2倍 NaCl Ringer 液、5) 10倍 NaCl Ringer 液、6) 脱 KCl Ringer 液、7) 1/10 KCl Ringer 液、8) 1/2 KCl

Ringer 液、9) 2倍 KCl Ringer 液、10) 10倍 KCl Ringer 液、11) 脱 CaCl<sub>2</sub> Ringer 液、12) 1/10 CaCl<sub>2</sub> Ringer 液、13) 1/2 CaCl<sub>2</sub> Ringer 液、14) 2倍 CaCl<sub>2</sub> Ringer 液、15) 10倍 CaCl<sub>2</sub> Ringer 液の15種類である。また、陽イオン置換溶液としては<sup>14)</sup>、NaCl に対して、1) LiCl Ringer 液 (NaCl=0)、2) 2倍 LiCl Ringer 液、3) 10倍 LiCl Ringer 液、KCl に対しては、4) RbCl Ringer 液 (KCl=0)、5) 10倍 RbCl Ringer 液等を適用した。次に二価陽イオンに対しては、1) MgCl<sub>2</sub> Ringer 液、2) 10倍 MgCl<sub>2</sub> Ringer 液、3) NiCl<sub>2</sub> Ringer 液、4) 10倍 NiCl<sub>2</sub> Ringer 液、5) BaCl<sub>2</sub> Ringer 液、6) 1 mM BaCl<sub>2</sub> 添加 Ringer 液の効果が観察された。したがって、置換液としては11種類の溶液が準備されたことになる。ただし、脱 NaCl Ringer 液の浸透圧を、saccharose で調整する場合、saccharose は、220.0 mM、1/10 NaCl Ringer 液では、198.7 mM 使用した。

## III. 実験結果

### A. Na イオン関係

1. 2倍 NaCl Ringer 液で、各標本はすべて数分以内に、単収縮高の減少を示した<sup>4)</sup>。併し、twitch で応じなくなった場合でも、tetanus 刺激に対しては、その後約20分、反応が認められた。単収縮波形を正常 Ringer 液でのものと比較すると、経時的に、収縮高は低下し、平均収縮速度 ( $\bar{X}_c$ ) と平均弛緩速度 ( $\bar{X}_r$ ) の低下を示す波形が現われている。

2. 1/2 NaCl Ringer 液で、太さ 500 本以下の標本では、数十分内に、その単収縮高の減少が認められ、また、閾値は上昇した。500 本以上の太い線維では、1日目、2日目と、次第に状態は不良となった。

3. 1/10 NaCl Ringer 液では、500 本、100本、と30本の各標本とも数十分にて、単収縮高が減少し、太い線維群では効果が遅れて現われた。浸透圧は saccharose で補整した。さらに、約 100 本前後の *sartorius* 筋で、twitch

では応じなくなった場合でも, tetanus 刺激で波形を記録すると, その後, 約10分前後は反応がみられた. 1/10 NaCl Ringer 液のみでは, 急激に数分以内に状態が不良となったが, saccharose 等で浸透圧調整をすると, 単収縮高の減少がより緩徐に現われることが認められた. すなわち, 浸透圧の調整をした場合には, 単収縮波形はより長時間にわたって記録できた (Fig. 1).

4. 単収縮波形について, 1/10 NaCl Ringer 液, 1/2 NaCl Ringer 液, 2倍 NaCl Ringer 液および5倍 NaCl Ringer 液で, 5分および10分目に, 単収縮高減少を比較すると, Fig. 2 のごとくになった.

5. 5倍 NaCl Ringer 液に3分浸し, tetanus 刺激を与えると, 収縮高の著明な減少がみられ, また, 10倍 NaCl Ringer 液では, 各標本は硬直的に不可逆性の拘縮を示した (Fig. 3).

B. K イオン関係

1. 10倍 KCl Ringer 液では, その作用

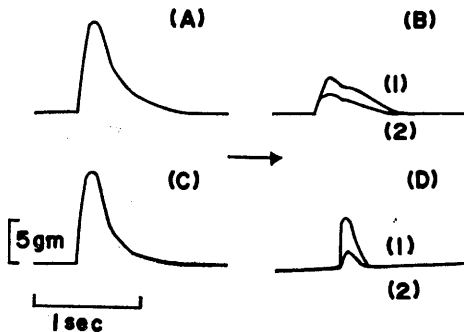


Fig. 1. Schematic representation of twitch curves in 1/10 NaCl Ringer with or without osmotic correction. (A) and (C) Normal Ringer. (B) 1/10 NaCl Ringer without osmotic correction, (1) after 2-minute immersion of the preparation in the solution of 1/10 NaCl Ringer, (2) after 3-minute immersion of the preparation in the solution of 1/10 NaCl Ringer. Material: sartorius (ca. 500 fibers), stimulus conditions: 20 V, 0.1 msec. (D) 1/10 NaCl Ringer with osmotic correction, (1) after 15-minute immersion, (2) after 25-minute immersion. Material: semitendinosus (ca. 200 fibers), stimulus conditions: 20 V, 3 msec.

直後のみ閾値は低下し, 単収縮高が増加, 500本の筋線維群で40分前後, 100本では, 10分前後, 30本では, 5分前後で収縮の消失が認められた. 収縮, 弛緩の経過は, 共に速くなり, 尖った張力波形が示された, すなわち, 正常Ringer液での波形と比較すると, 経時的にみて, 閾値の上昇, 収縮高の低下があり,  $\dot{X}_c$ ,  $\dot{X}_r$  値の上昇を示す波形となった (Fig. 4).

2. 2倍 KCl Ringer 液では, 正常Ringer液の場合とほぼ類似した効果が, 収縮高および

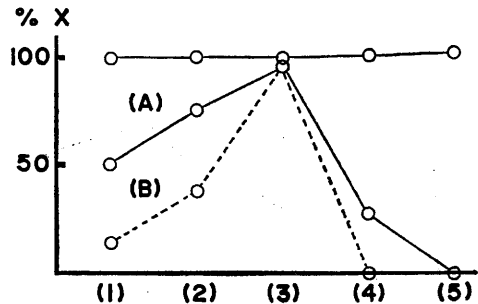


Fig. 2. Effect of various concentrations of NaCl on the contraction height (X) schematically represented. (A) Twitch height induced after 5-minute immersion. (B) Twitch height induced after 10-minute immersion. Materials: sartorius, semitendinosus (from ca. 100 to 300 fibers). Abscissa: (1) 1/10 NaCl, (2) 1/2 NaCl, (3) normal Ringer (1x NaCl), (4) 2x NaCl, (5) 5x NaCl.

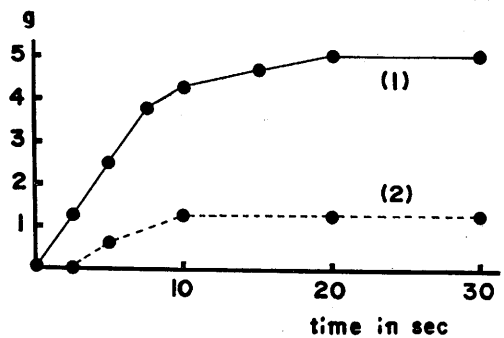


Fig. 3. Effects of 10x NaCl Ringer and 10x LiCl Ringer on contractures. (1) Contractures of the semitendinosus induced by 10x NaCl Ringer (ca. 500 fibers). (2) Contractures of the semitendinosus induced by 10x LiCl Ringer (ca. 500 fibers). Ordinate: contraction height (g). Abscissa: time in seconds.

波形等に現われた。

3. 1/2 あるいは、1/10 KCl Ringer 液では、細い筋線維群の収縮高の減少は速かに、太いものでは、徐々に現われた。

4. 脱 KCl Ringer 液では、正常 Ringer 液と比べ、全筋では著明な差が示されないが、細いものでは、3. と同様の傾向を示し、結局、閾値の上昇を示しながら、経日的には状態が不良となった (Fig. 5).

5. KCl 濃度を 30 mM, 60 mM, 100 mM と増加させていくと、拘縮を生じ、活動電位を隔絶法で測定してみると、まったく変化がみら

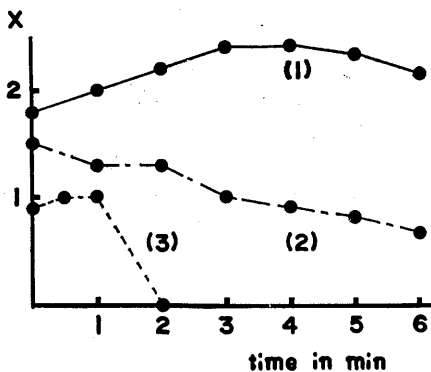


Fig. 4. Effects of  $10\times$  KCl on twitch tension of fibers with various sizes. (1) Semitendinosus (ca. 300 fibers), (2) sartorius (ca. 100 fibers), (3) semitendinosus (ca. 30 fibers). Ordinate: contraction height. Abscissa: time in minutes. Stimulus conditions: (1) 30 V, 5 msec, (2) 40 V, 20 msec, (3) 40 V, 20 msec.

れなかった。この点は、1174 mM NaCl Ringer 液による拘縮と同じであった。

6. Tetanus においても、twitch の場合と同様、10倍 KCl Ringer 液で、尖った波形になり、 $\bar{X}c$  および  $\bar{X}r$  値の上昇が認められた。また、10倍 KCl Ringer 液で、単収縮高の消失後、tetanus 刺激で、波形を記録すると、100本前後の semitendinosus 筋で、約10分間反応が認められた。

7. 脱 KCl Ringer 液の tetanus も、twitch の場合と同様、正常 Ringer 液と比べ、著明な差が示されないが、弛緩期の延長、刺激閾値の

上昇等の所見を呈しながら、経日的には、状態が不良となった。

### C. Ca イオン関係

$CaCl_2$  濃度変化に対する収縮高の変化は複雑で、高  $CaCl_2$  Ringer 液も、低  $CaCl_2$  Ringer 液でも、更に、時には脱  $CaCl_2$  Ringer 液でも、収縮高の上昇が認められた。ただし、筋張力曲線の波形では差が認められた。すなわち、低  $CaCl_2$  Ringer 液では、 $\bar{X}r$  値の低下、およ

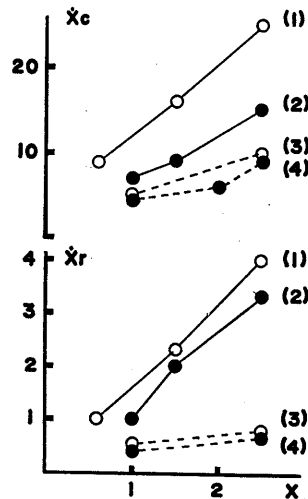


Fig. 5. Effects of K-free Ringer on contraction velocity, relaxation velocity and contraction height. (1) Normal Ringer, (2) 20 minutes after K-free Ringer immersion, (3) 24 hours after normal Ringer immersion, (4) 24 hours after K-free Ringer immersion. Ordinate:  $\bar{X}c$  (average contraction velocity),  $\bar{X}r$  (average relaxation velocity). Abscissa: X (contraction height).

び筋弛緩期の延長が認められるが、高  $CaCl_2$  Ringer 液では、収縮高および筋弛緩期は増大し、平均弛緩速度にはほとんど影響がみられなかった。

1. 10倍  $CaCl_2$  Ringer 液では、閾値の低下、ならびに、収縮高の増大が認められた (Fig. 6).

2. 2倍  $CaCl_2$  Ringer 液では、正常 Ringer 液での筋張力波形を長く維持出来るが、単収縮高に軽度の増加があり、正常 Ringer 液での波形と波形上で大差はなかった。

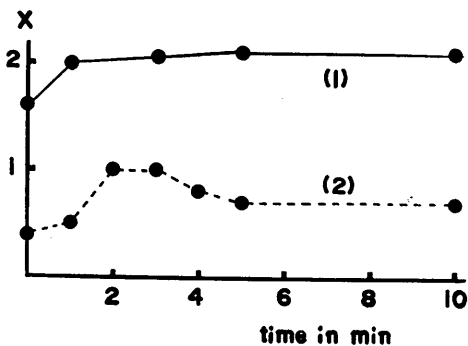


Fig. 6. Time course of change of contraction height following the application of  $10\times\text{CaCl}_2$  Ringer. (1) Sartorius (ca. 500 fibers), (2) semitendinosus (ca. 30 fibers). Ordinate: contraction height. Abscissa: time in minutes. Stimulus conditions: (1) 30 V, 1 msec, (2) 40 V, 20 msec.

3.  $1/2\text{CaCl}_2$  Ringer 液では、高  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液の場合と同様に、単収縮高の増大が認められた。  $1/10\text{CaCl}_2$  Ringer 液では、収縮高の増大と、それ以上の筋弛緩期の延長により、 $\dot{X}r$  値の低下が認められた (Fig. 7)。

4. 脱  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液では、  $1/10\text{CaCl}_2$  Ringer 液のものより、筋弛緩期の延長は著明となり、単収縮高も増大した。

5. 高  $\text{CaCl}_2$  Ringer (10倍) 液および脱  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液の場合、共に強縮収縮高は増大し、twitch における結果と矛盾するものではなかった。ただし、高  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液のものの方が脱  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液の場合より、 $\dot{X}c-X$  平面での直線の勾配が大であった。高  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液、脱  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液、正常 Ringer 液で比較すると、Fig. 8 のごとき結果が求められた。

すなわち、 $\dot{X}c-X$  平面で、高  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液、脱  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液および正常 Ringer 液内での結果を比較すると、それらは  $\dot{X}c=aX$  ( $a > 0$ ) 形式で示される。その際、高  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液の係数  $a$  は、脱  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液のそれより大であった。また、脱  $\text{CaCl}_2$  Ringer 液から、正常 Ringer 液にもどし、10分前後で収縮高の減少がみられた (Fig. 9)。

#### D. Li イオンの影響

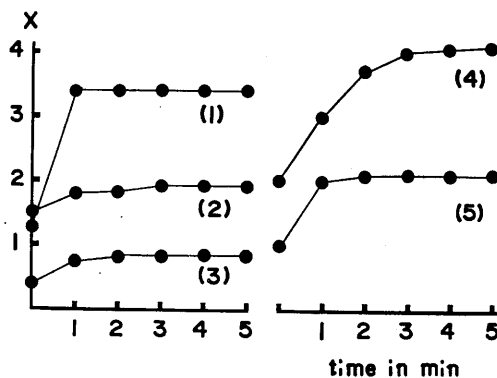


Fig. 7. Effects of  $1/2$  and  $1/10\text{CaCl}_2$  Ringer on twitch tensions of various fibers. (1)  $1/2\text{CaCl}_2$  Ringer : sartorius (ca. 500 fibers), (2)  $1/2\text{CaCl}_2$  Ringer : semitendinosus (ca. 100 fibers), (3)  $1/2\text{CaCl}_2$  Ringer : semitendinosus (ca. 30 fibers), (4)  $1/10\text{CaCl}_2$  Ringer : sartorius (ca. 200 fibers), (5)  $1/10\text{CaCl}_2$  Ringer : semitendinosus (ca. 30 fibers). Ordinate: contraction height. Abscissa: time in minutes. Stimulus conditions: (1) 40 V, 0.1 msec, (2) 40 V, 0.1 msec, (3) 40 V, 0.1 msec produced no contraction thus the pulse duration was increased up to 60 msec. (4) 40 V, 0.1 msec, (5) 40 V, 0.6 msec.

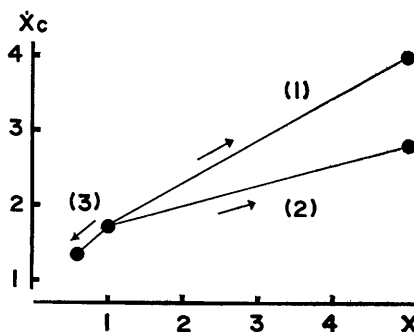


Fig. 8. Comparison of calcium effects appeared on the  $\dot{X}c-X$  plane for tetanus tension. (1) High-calcium Ringer ( $10\times\text{CaCl}_2$ ), (2) Ca-free Ringer, (3) normal Ringer ( $\text{CaCl}_2: 2\text{mM}$ ). Ordinate: average contraction velocity. Abscissa: contraction height. Stimulus conditions: (1) 10 V, 0.5 msec, 20 cps and 3 sec; (2) 10 V, 0.4 msec, 20 cps and 3 sec; (3) 10 V, 0.5 msec, 20 cps and 3 sec.

1. LiCl Ringer 液 ( $\text{NaCl}=0$ ) で、twitch 波形を記録すると、正常 Ringer 液のものとは似た収縮曲線を示し、数日間、筋の状態は不良とならなかった。また、LiCl Ringer 液にて、

tetanus 波形を記録すると, twitch 波形の場合のように, 正常 Ringer 液のものと比較しても著明な差はみられなかった (Fig. 10).

2. 2倍の LiCl Ringer 液 ( $\text{NaCl}=0$ ) では, 2倍の NaCl Ringer 液に浸した際と同様, 高浸透圧のため, 短時間で筋の状態は不良となった. 結果は, 2倍の NaCl Ringer 液の場合のように, 経時的にみて, 収縮高の低下,  $\dot{X}_c$ ,  $\dot{X}_r$  値の低下を示す波形がみられた.

3. 10倍 LiCl Ringer 液では, 拘縮を生じたが, 微小電極法による細胞電位の観察で活

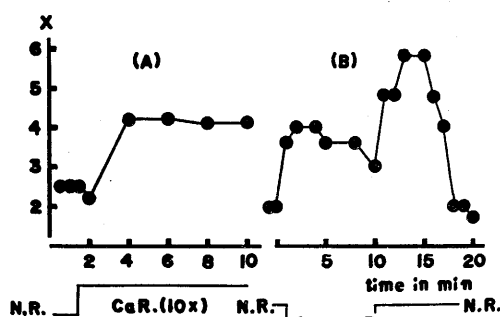


Fig. 9. Time course of tetanus tensions induced by high calcium (A) and calcium free (B) Ringer. N. R.: normal Ringer, CaR. (10 $\times$ ): 10 $\times$  CaCl<sub>2</sub> Ringer, Ca-free R.: CaCl<sub>2</sub> free Ringer. Material: semitendinosus (ca. 100 fibers). Ordinate: contraction height. Abscissa: time in minutes. Solution changes are indicated by the steps in the lower traces. Stimulus conditions: (A) 20 V, 0.4 msec, 20 cps and 3 sec; (B) 10 V, 6 msec, 30 cps and 3 sec.

動電位は現われず, 筋収縮のみが認められた.

4. 5倍 LiCl Ringer 液に2分浸し, tetanus を記録すると, 著明な収縮高の減少が認められた.

#### E. Rb イオンの影響

1. RbCl Ringer 液 ( $\text{KCl}=0$ ) にて, 単収縮波形を記録すると, 短時間作用では, 正常 Ringer 液と比べ, 筋の状態の差は少なく, 閾値のわずかな低下があり, 経日変化では収縮高の減少が示された. RbCl Ringer 液で, 100本程度の線維群に対する10分程度の短時間の影

響では立ち上り速度の大きな変化はなく, 同様の収縮高が得られ, 閾値範囲にも著明な変化はない. また, 20時間 RbCl Ringer 液に浸すと, RbとKは, 50%位が置換されるといわれているが<sup>1)</sup>, そのため10分程度の RbCl 効果の反応の現われ方は速かではないと考えられる.

2. 2倍 RbCl Ringer 液 ( $\text{KCl}=0$ ) にて, 単収縮波形を記録すると, 閾値はしだいに上昇し, 30分で単収縮高の減少がみられるが, 正常 Ringer 液にもどすと, 再び収縮高を増し, 閾値も回復する点から, 2倍の RbCl Rin-

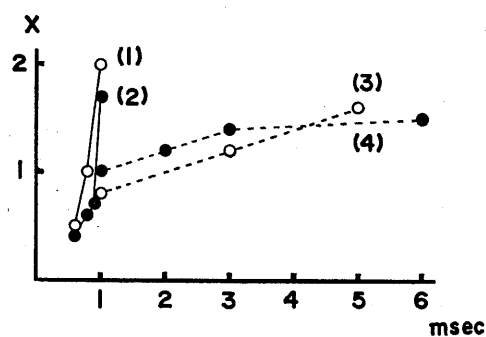


Fig. 10. Comparison of effects on twitch tensions between the control and LiCl Ringer. (1) Normal Ringer effect (semitendinosus: ca. 100 fibers), (2) LiCl Ringer effect after 20-minute immersion (semitendinosus: ca. 100 fibers), (3) normal Ringer effect on the second day (sartorius: ca. 100 fibers), (4) LiCl Ringer effect on the second day (sartorius: ca. 100 fibers). Ordinate: contraction height. Abscissa: stimulus pulse duration in msec.

ger 液の影響は, KCl の影響と類似したものであるとみなされる (Fig. 11).

3. 10倍 RbCl Ringer 液 ( $\text{KCl}=0$ ) にて, 単収縮波形を記録すると, 40分までの経過では, 収縮高に関して10倍 RbCl Ringer 液と正常 Ringer 液の間に, 差は認められず, 10倍 RbCl Ringer 液の方が, やや閾値の低下, 筋弛緩期の延長等がみられた. また, 10倍の KCl Ringer 液でみられたような収縮高の著減, 閾値の上昇, 平均収縮速度, 平均弛緩速度の増加とは異った反応がみられた (Fig. 12).

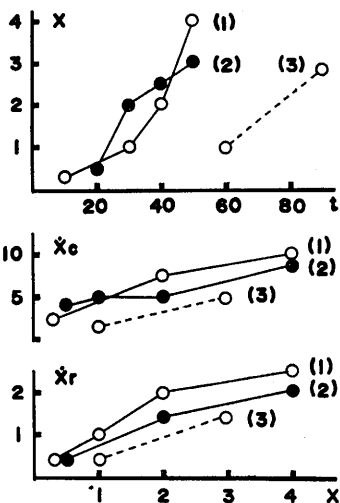


Fig. 11. Effects of  $2 \times$  RbCl Ringer on twitch tensions of sartorius muscles. (1) The controls in normal Ringer, (2) the test results for 10-min immersion of the preparation in  $2 \times$  RbCl Ringer, (3) the results for 40-min immersion of the preparation in normal Ringer after the 10-min immersion in  $2 \times$  RbCl Ringer. The symbols are as follows: X (contraction height), t (pulse duration in msec),  $\dot{X}_c$  (contraction velocity) and  $\dot{X}_r$  (relaxation velocity).

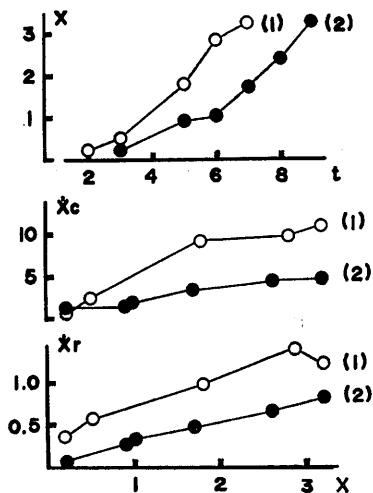


Fig. 12. Effects of  $10 \times$  RbCl Ringer on twitch tensions of sartorius fibers. (1) Normal Ringer control, (2)  $10 \times$  RbCl Ringer effect after 20-minute immersion. The symbols are the same as in Fig. 11.

4. Rb イオン濃度を, KCl の場合と同様, 30 mM, 60 mM, 100 mM 等と増加させた Ringer 液で, やはり拘縮が認められた. 拘縮発生の閾値は, 室温下で 40~50 mM であった. この値は KCl の閾値濃度よりやや高目であった. 拘縮中は, やはり活動電位の変化はみられなかった.

5. RbCl Ringer 液にて, 5 日間の経日的変化を記録すると, Fig. 13 のごとく, 閾値の上昇があり, 単収縮波形では, 収縮高の低下, 筋弛緩期のわずかな延長が認められた.

6. 10倍 RbCl Ringer 液での tetanus では, 高 KCl Ringer 液の場合と異なり, 収縮高の低下, 平均収縮速度値の減少, 弛緩期の延長等が認められた.

F. 二価陽イオンの影響

1.  $MgCl_2$  Ringer 液 ( $CaCl_2 = 0$ ) では, わずかな閾値の低下があり, 筋弛緩期の延長が認められるが, 正常 Ringer 液の場合と似た平均収縮速度および平均弛緩速度値を示した. 正常 Ringer 液と  $MgCl_2$  Ringer 液で, 正常 Rin-

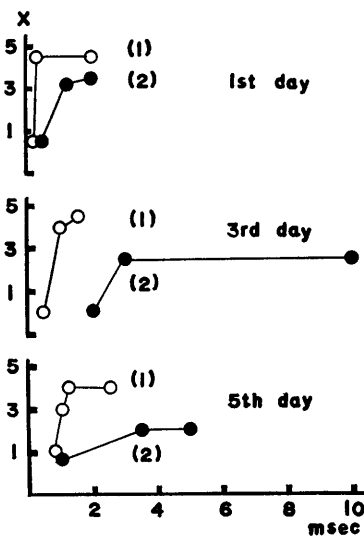


Fig. 13. Successive changes of contraction heights taken against the stimulus pulse duration. The samples were immersed in normal Ringer (1) and RbCl Ringer (2) respectively. Ordinate: contraction height. Abscissa: stimulus pulse duration in msec. Material: sartorius (ca. 200 fibers).

ger 液から,  $MgCl_2$  Ringer 液, 再び正常 Ringer 液と, 10分間隔でうつし, 閾値の比較をした結果, 閾値はほぼ同一の値を示した. さらに, 平均収縮速度, および平均弛緩速度を正常

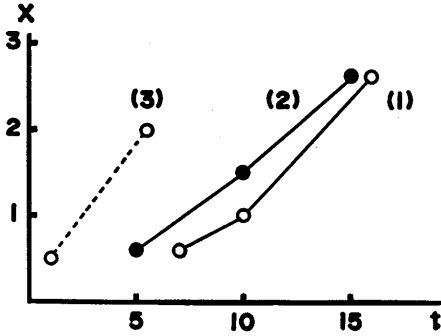


Fig. 14. Effects of  $MgCl_2$  Ringer on the contraction height "X" and stimulus pulse duration "t" (msec) for twitch tensions. (1) The control in normal Ringer, (2) the test results obtained 10 min after replacing normal Ringer with  $MgCl_2$  Ringer, (3) the results obtained 20 min after replacing the test solution with normal Ringer. Material: semitendinosus (ca. 100 fibers).

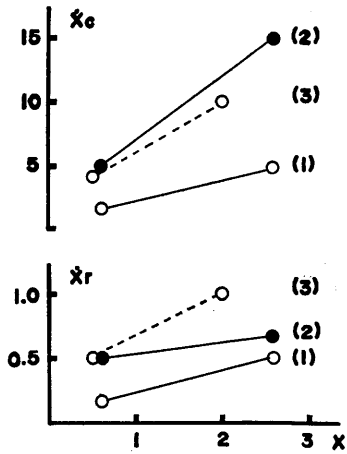


Fig. 15. Effects of  $MgCl_2$  Ringer. Average contraction velocity ( $\dot{X}_c$ ) and relaxation velocity ( $\dot{X}_r$ ) were taken against contraction height (X). (1) The results in normal Ringer, (2) the results obtained after 10 min immersion in  $MgCl_2$  Ringer, (3) the results obtained 20 min after having replaced the test solution (2) with normal Ringer. Material: semitendinosus (ca. 100 fibers). (1), (2) and (3) are the data from the sample. Stimulus condition: 20 V, 3 msec for the right points, 20 V, 0.5 msec for the left points.

Ringer 液と  $MgCl_2$  Ringer 液で比較すると, ほぼ同一の経過と同一の値を示し, 正常 Ringer 液の場合と大差はなかった. さらに, 経日的変化をみると, 3日間前後, 変化は認められなかった (Fig. 14), (Fig. 15).

2. 10倍  $MgCl_2$  Ringer 液 ( $CaCl_2 = 0$ ) では, 閾値の低下はさらに著明となるが, 波形に変化はみられず, 経日的に観察すると, 収縮高の減少がみられた. 10倍  $MgCl_2$  Ringer 液と正常 Ringer 液の場合について, 閾値および平均収縮速度を比較すると, 10倍  $MgCl_2$  Ringer 液では, 閾値の低下, および  $\dot{X}_c$  値の低下がわずかにみられた (Fig. 16).

3.  $NiCl_2$  Ringer 液 ( $CaCl_2 = 0$ ) では, 閾値は上昇し, 短時間で単収縮高の減少がみられ波形では, 収縮高の低下, 平均収縮速度値の減少, 平均弛緩速度値の低下が認められた (Fig. 17).

4. 10倍  $NiCl_2$  Ringer 液では, 閾値が上昇し, 極端に単収縮高は減少し, 数分間で反応は消失した. ただし, twitch 刺激に対する反

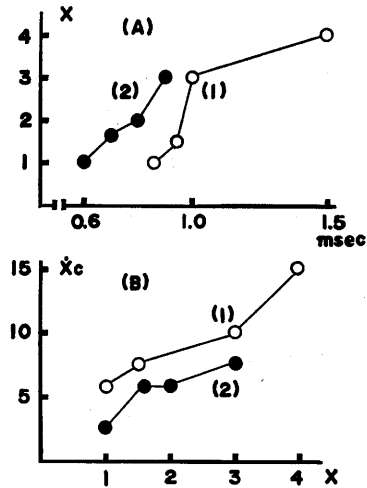


Fig. 16. Comparison of different effects between the control and the  $10 \times MgCl_2$  Ringer solution. Material: semitendinosus (ca. 100 fibers). (1) Normal Ringer, (2) after 20-minute immersion of the preparation in  $10 \times MgCl_2$ . (A) Ordinate: contraction height. Abscissa: stimulus pulse duration in msec. (B) Ordinate: average contraction velocity. Abscissa: contraction height.

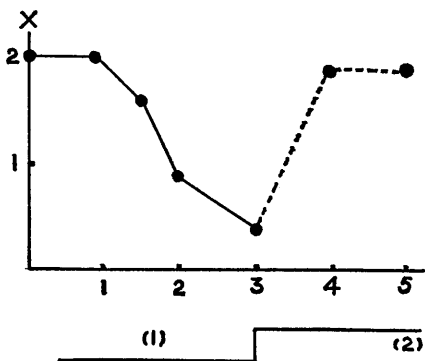


Fig. 17. Time course of  $\text{NiCl}_2$  Ringer effect on twitch tension (X). (1)  $\text{NiCl}_2$  Ringer, (2) normal Ringer. Material: sartorius (ca. 100 fibers). Abscissa: time in minutes. Stimulus conditions: 20 V, 0.2 msec.

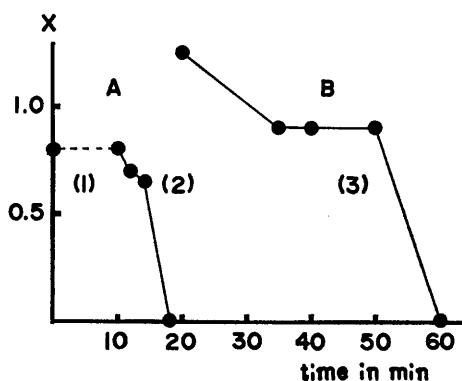


Fig. 18. Effects of  $10\times\text{NiCl}_2$  Ringer on the twitch and tetanus tensions of semitendinosus fibers (ca. 300 fibers). A: twitch height produced by 20 V pulses with 3 msec duration, (1) normal Ringer, (2)  $10\times\text{NiCl}_2$  Ringer. B: tetanus produced by stimuli: 50 V, 3 msec, 40 cps and 5 sec. (3)  $10\times\text{NiCl}_2$  Ringer.

応消失直後数十分間 tetanus 反応は維持された (Fig. 18).

5.  $\text{BaCl}_2$  (1 mM) 添加 Ringer 液では、閾値の低下、単収縮高の減少があり、 $\text{BaCl}_2$  添加 Ringer 液で、単収縮波形消失後、直ちに、正常 Ringer 液にもどせば、反応は回復した (Fig. 19).

さらに、 $\text{BaCl}_2$  添加 Ringer 液につけ、5 分、10分、20分と時間的経過を追って収縮曲線を求め、その波形を  $\dot{X}c-X$  平面、および  $\dot{X}r-$

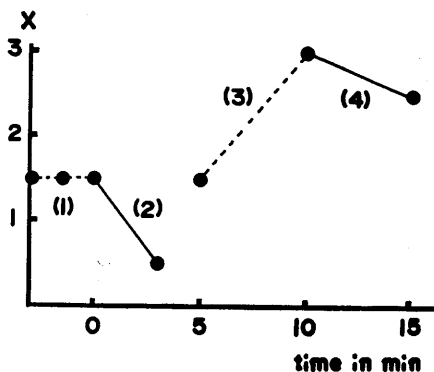


Fig. 19. Time course of contraction heights examined in normal and  $\text{BaCl}_2$  (1 mM) Ringer. (1) and (3): Normal Ringer, (2) and (4):  $\text{BaCl}_2$ -added Ringer. Material: semitendinosus (ca. 200 fibers). Ordinate: contraction height. Abscissa: time in minutes. Stimulus conditions: 20 V, 3 msec for (1) and (2); 20 V, 9 msec for (3) and (4).

X 平面で記録すると、時間と共に多様な変化を示し、各データの実験式  $\dot{X}c=aX$ ,  $\dot{X}r=aX$  等の係数 a の符号は、正、負両方の値をとることがみられた。

#### IV. 考 察

筋収縮の波形が変化する場合、4 種類のパターンが認められ、その中  $\dot{X}c=\text{constant}$  となるものは A,  $X=\text{constant}$  となるものは B,  $\dot{X}c=aX$  ( $a > 0$ ) となるものは C,  $\dot{X}c=aX$  ( $a < 0$ ) となるものは C' と命名されたが、その実例については先に報告したところである<sup>37)39)</sup>。

ところで、前述の結果について言えば、Fig. 5, 8, 11, 12, 15等の例は何れも C 型の変化を示しているが、 $\text{Ba}$  1 mM 添加の例では C' 型も現われている。また、同一強度の刺激に対する収縮曲線を、Ringer 液を次第に冷却しつつ求めると、C' 型に従って変化が現われてくる<sup>39)</sup>。

さて、剔出標本の生存に関する代用液についての研究は、Ringer 以来<sup>28)</sup>、多くの研究者によって行なわれているが、その組成ならびに濃度については、現在慣用のような標準的方法が、一般には、用いられるに到った。特に、筋線維に対する各種イオンの影響については、熊

谷<sup>22)</sup>, 真島<sup>19)</sup>, Lehninger<sup>16)</sup>, Sandow<sup>30)</sup>らにより, 解説が行なわれ, また, Shanes<sup>31)</sup>, Lorkovic<sup>18)</sup>, 上田<sup>41)</sup>等により, 一般的な説明も試みられている. また, 二価イオンの相互作用の定量的な関係に関しては, 八木<sup>42)</sup>, Nihei<sup>24)</sup>, Frank<sup>11)</sup>, Nanninga<sup>23)</sup>等により, 詳細な論述が展開されている. 今, Ringer 液の基本濃度から, 濃い方向または, 薄い方向へ, 濃度を変化させると, 前述の如く, 筋に対する種々の影響が現われるが, この影響は, 個々の筋のイオンに対する感受性によっても左右されるので, 同一イオン環境の影響でも必ずしも常に一定の結果が求められるとは限らない<sup>40)</sup>. また濃度は物理化学的には, 活動度係数, 電離係数等によって, 実効値の変化をうけることが知られているし, 生物学的には, 細胞内の濃度は, 細胞内の場所により必ずしも均一であるとは見なされていない<sup>32)</sup>. したがって, 定量的に正しい取扱いは, 決して容易ではない. 一方, イオンの効果を速かに発現させ, 外液と, 細胞外液の条件が, 完全に一致するようにするためには, 単一筋線維標本が好ましいといえるが, そのような標本は, 力学的な実験の材料としては脆弱であるので, 全筋の実験の後には, 太さを, 30~500本として, その線維群に対するイオンの効果を検討した.

今一つの問題点は, 外液における陽イオンの交換が, 必ずしも直ちに, 作用部位におけるそのイオンの交換とは結びつかない点である. たとえば, Ca の重要性は, しばしば指摘されているが, その細胞内への結合はかなり強固で, free なものは少い<sup>10)13)25)</sup>. そこで, 外液の Ca の除去は, 細胞内の Ca の除去を意味するものではない. Ca の除去をより完全に行なうためには, EDTA を用いて, 脱 Ca を行なう方法が考えられるが, この方法でも, 細胞内の Ca を完全に除去する訳ではなく<sup>12)</sup>, 脱 Ca 液の作用と記したものは, 細胞外液の Ca が除去されたことを意味するにすぎない. 脱 Ca の収縮力に対する効果が, Fig. 8 に示したように, 高 Ca の効果と一致していることは, 一見極めて奇異

に思われるが, Caputo等<sup>8)</sup>の実験でもこのような効果は求められている.

イオンは, また, 単独の効果を示すばかりではなく相互に影響し合って, 新しい効果を示すという考えも, しばしば行なわれている. 例えば, 神経, 筋の被刺激性 E に対して,

$$E \propto \frac{Na^+ + K^+}{Ca^{++} + Mg^{++} + H^+} \dots\dots\dots(1)$$

のごとき, 実験式が知られているが<sup>34)</sup>, 一方骨格筋の相対的張力 RT は,

$$RT \propto \frac{[Ca^{++}]}{[Na^+]^2} \dots\dots\dots(2)$$

であることも, 実証されている<sup>14)</sup>. また筋の microsome の陽イオン結合能については,

$$Ca + Mg + K = \text{constant} \dots\dots\dots(3)$$

であることが知られている<sup>9)</sup>. また, 一般には, 2種の陽イオンが共存する際,

$$\frac{1}{[Pi]_{in}} = \frac{[Pi]_{ex}}{[R]} \frac{1}{[Pi]_{ex}} + \frac{1}{[R]} \dots\dots\dots(4)$$

のごとき関係が成立するが, この式で  $[Pi]_{in}$  は平衡時の細胞内の陽イオン i の濃度,  $[Pi]_{ex}$  は平衡時の細胞外濃度,  $[R]$  は陰イオン濃度,  $[Pi]_{ex}$  は, 細胞外の陽イオン j の濃度である<sup>17)</sup>. また, Na の細胞外へのくみ出しに関していえば, K と Li の間に類似性が成立するという報告もある<sup>3)</sup>. 相互関係を二価陽イオンと一価陽イオンの間に拡大して観察すると, Ca は Na と細胞膜孔に対して拮抗的に作用し<sup>21)</sup>, Ba は K の通過し易い膜孔と拮抗的に作用する<sup>33)</sup>といわれている. また二価陽イオンが, 一価陽イオンに影響をおよぼすことは活動電位の面からも説明されている<sup>15)</sup>.

ところで, グリセロール筋の収縮実験では, Na, K 等よりは, むしろ, Mg の重要性が強調されているが<sup>27)</sup>, カエル筋の Ringer 液に Mg を含ませないのは, 生筋の代用液とグリセロール筋のイオン環境の間の大きい違いであるといえよう. 要するに, 生体に対する陽イオン効果には, 浸透圧の維持, 電気化学的ポテンシャルの維持のように, どちらかといえば, 非特異的な作用を示すものと, 酵素系の化学反応に対す

るように、特異的に作用するものが考えられる。

非特異的な作用を示すイオンに対しては、置換の可能性は大であるが、特異的な作用を示すものについては、置換の可能性は小であるということが、一般的にいえるであろう。前者の例としては、Na と Li, または K と Rb の関係があげられ、後者の例としては、Ca と Mg の関係等があげられる。同じ一価の陽イオンで Na と K の間には、可換性が極めて低いことも証明されている<sup>2)</sup>。併し、K と Rb の構造の類似による可換性のよさについては、Sandow, Relman 等の報告に詳細な記述がある<sup>26)29)</sup>。また、Ca と Sr の可換性は特定の現象に対しては、極めて高いとの報告もある<sup>30)</sup>。

最後に、Ringer 液組成の妥当性について概括すると、個々の標本にはそれぞれ特有の至適な組成があり、標準の液とは、それらに対する平均的なものであるといえることになる。各成分の単独の影響ならびに複合的な影響について、さらに詳細に、収縮機構ないし EC カップリングの如何なる点にどのような影響を与えるかを明かにするためには、前述の如く、力学的方法を中心とした観測を行なうほかに、形態学的、電気的、化学的方法をも加えて、検討を続けることが今後必要であると考えられる。

## V. 結 論

1. 10倍 NaCl Ringer 液では、各標本は拘縮を生じ、その張力は、159 g/cm<sup>2</sup> 程度であった。

2. 2倍 NaCl Ringer 液では、各標本は、すべて、数分以内に単収縮高の減少を示した。高浸透圧の影響で、一過性に  $\dot{X}c$  の上昇は認められ、引きつづき  $\dot{X}c$ ,  $X$  の低下が現われた。また、5倍の NaCl Ringer 液で tetanus を起させると、著しい収縮高の減少がみられた。

3. 1/2 NaCl Ringer 液では、数10分以内で、その単収縮高が減少した。

4. 脱 NaCl Ringer 液、および 1/10 NaCl Ringer 液では、単収縮高の減少が、非常に早

く現われた。

5. K イオンの影響については、10倍 KCl Ringer (20 mM) 液では、拘縮は発生しないが、さらに、10~20 mM, KCl 濃度を増加させると、拘縮が発現した。10倍 KCl Ringer 液で、単収縮波形の時間的経過をみると、約100本の筋線維で、数10分、全筋では40分前後で、単収縮高の消失が認められる。Twitch, tetanus 共に、高 KCl Ringer 液の影響は  $\dot{X}c$  および  $\dot{X}r$  の値の増加を起させた。

6. 1/2 および 1/10 KCl Ringer 液では、単収縮高の減少が認められる。しかし、高 KCl Ringer 液の場合に比し、効果の現われ方は弱い。

7. 高 CaCl<sub>2</sub> Ringer 液では、単収縮高は上昇し、また低 CaCl<sub>2</sub> Ringer 液でも、一時的には上昇が示された。ただし、低 CaCl<sub>2</sub> Ringer 液では、twitch, tetanus 共に筋弛緩期の延長がみられた。

8. LiCl Ringer 液 (NaCl=0) では、正常 Ringer 液の波形と類似した収縮曲線を示し、数日間、筋の状態は不良とならなかった<sup>7)</sup>。

9. 2倍の LiCl Ringer 液 (NaCl=0) では、2倍の NaCl Ringer 液に浸した際と同様、高浸透圧のため、短時間で、収縮高の減少が起り、筋の状態は不良となった。結果は2倍の NaCl Ringer 液と類似していた<sup>7)</sup>。

10. K に対し、Rb で置換した場合、短時間内の置換に際しては、twitch および tetanus の収縮高、平均収縮速度、および平均弛緩速度のそれぞれの値に対し、大差なく、十分置換可能と考えられた。ただし、長時間の Rb による置換では、 $\dot{X}r$  値の低下、収縮高の低下、および  $\dot{X}c$  値の低下、閾値の上昇があり、正常 Ringer 液の場合より状態は不良となった。

11. CaCl<sub>2</sub> に対し、MgCl<sub>2</sub> にて置換した場合は、閾値の低下等を認め、短時間の置換は可能であった。

12. NiCl<sub>2</sub> Ringer 液 (CaCl<sub>2</sub>=0) では、閾値の上昇、筋弛緩期の延長、さらに、短時間内に、単収縮高の減少が認められ、CaCl<sub>2</sub> に対す

る置換は不可能であった。

13. Ba 添加 (1 mM) Ringer 液では、一過性に収縮高の増大、閾値の低下が認められるが、その後急速に、収縮高の減少が起った。

稿を終えるにあたり、終始懇切な御指導と御校閲を賜った上田五雨教授に深く感謝の意を表します。また、御援助下さった教室員の方々に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Adrian, R. H. (1964) The rubidium and potassium permeability of frog muscle membrane. *J. Physiol.*, **175**, 134-159
- 2) April, E., Brandt, P. W., Reuben, J. P. & Grundfest, H. (1968) Muscle contraction: The effects of ionic strength. *Nature*, **220**, 182-184
- 3) Beauge, L. A. & Sjodin, R. A. (1968) Sodium efflux. *J. Gen. Physiol.*, **52**, 408-423
- 4) 別府穂積, 上田五雨 (1972) Ringer 液組成変化に対する筋収縮変化の分析について. *日本生理誌* **34**, 388
- 5) 別府穂積, 上田五雨 (1972) Ringer 液組成変化に対する筋線維群の収縮変化. *日本生理誌* **34**, 539
- 6) 別府穂積, 上田五雨 (1972) Ringer 液の陽イオン置換に対する収縮変化. *日本生理誌* **34**, 719
- 7) 別府穂積, 上田五雨 (1973) 筋テタヌスと各種陽イオンの影響の解析. *日本生理誌* **35**, 478
- 8) Caputo, C. & Gimenez, M. (1967) Calcium effect on muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, **50**, 2177-2193
- 9) Carvallo, A. P. & Leo, B. (1967) Binding of cations by sarcoplasmic reticulum. *J. Gen. Physiol.*, **50**, 1327-1352
- 10) Ebashi, S. & Endo, M. (1968) Calcium and muscle contraction. In, J. A. V. Butler and D. Noble, *Progress in Biophysics and molecular biology*, Pergamon Press, Oxford
- 11) Frank, G. (1965) Calcium and other ions in contraction of skeletal muscles. Paul, W. M., Daniel, E. E., Kay, C. M. & Monoclon, G. (Editors) *Muscle*, Pergamon Press, Oxford
- 12) Gilbert, D. L. & Fenn, W. O. (1957) Calcium equilibrium in muscle. *J. Gen. Physiol.*, **40**, 393-408
- 13) 堀田 健 (1972) 筋収縮とその調節機構. *日本生理誌* **34**, 727-738
- 14) Kirby, A. C. (1970) Frog tonic muscle fibers: extracellular calcium and excitation-contraction coupling. *Am. J. Physiol.*, **219**, 1446-1450
- 15) 小林春雄 (1962) 骨格筋の電気的活動に及ぼす二価金属イオンの影響. *日本生理誌* **24**, 525-532
- 16) Lehninger, A. L. (1950) Role of metal ions in enzyme systems. *Physiol. Rev.*, **30**, 393-429
- 17) Ling, G. N. & Ochsenfeld, M. M. (1966) Studies on ion accumulation in muscle cells. *J. Gen. Physiol.*, **49**, 819-843
- 18) Lorkovic, H. (1967) Effects of some divalent cation on frog twitch muscles. *Am. J. Physiol.*, **212**, 623-628
- 19) 真島英信 (1965) 筋収縮の生理学的研究. 生物物理学会編, 生体機能の分子論, 吉岡書店 28-85
- 20) 真島英信 (1966) 筋収縮の力学. 藤森聞一編, 生理学大系Ⅶ, 第1版 第3章 医学書院 73
- 21) Mullins, L. J. (1959) The penetration of some cations into muscle. *J. Gen. Physiol.*, **42**, 817-829
- 22) 永井寅男, 宮崎英策 (1959) ミオシン. 熊谷 洋編, 筋化学, 第1版 第3章 医学書院 68-121
- 23) Nanninga, L. B. (1961) The association constant of the complexes of adenosine triphosphate with magnesium, calcium, strontium and barium ions. *Biochim. Biophys. Acta*, **54**, 330-338
- 24) Nihei, T. & Tonomura, Y. (1959) Myosin B-ATPase. *J. Biochem.*, **46**, 305-319
- 25) 西島博明, 米本恭三, 酒井敏夫 (1972) 分離筋小胞体の Ca イオンとりこみ能に対する温度及び薬物の影響. *日本生理誌* **34**, 28-39
- 26) Relman, A. S. (1956) Physiology of rubidium and cesium. *Yale J. Biol. & Med.*, **29**, 248-262
- 27) Reuben, J. P., Brandt, P. W., Berman, M. & Grundfest, H. (1971) Tension regulation in skinned muscle fiber I. *J. Gen. Physiol.*, **57**, 385-407
- 28) Ringer, S. & Murrell, W. (1878) Concerning the effects on frogs of arrest of the circulation and an explanation of the action of potash salts on the animal body. *J. Physiol.*, **1**, 72-95
- 29) Sandow, A. (1951) Potassium and rubidium potentions. *J. Cell. & Comp. Physiol.*, **38**, 271-291
- 30) Sandow, A. (1965) Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Pharmacol. Rev.*, **17**, 265-320
- 31) Shanes, A. M. (1950) Drug and ion effects in frog muscle. *J. Gen. Physiol.*, **33**, 729-744
- 32) Shaw, F. H. (1959) Muscle: A three phase system. *J. Gen. Physiol.*, **43**, 55-79
- 33) Sperelakis, N., Schneider, M. F. & Harris, E. J. (1967) Decreased K<sup>+</sup> conductance produced by Ba<sup>++</sup> in frog sartorius fibers. *J. Gen. Physiol.*, **50**, 1565-1583
- 34) 田坂定孝, 吉利 和 (1955) 循環系と水電解質. *日本臨床* **13**, 23-28
- 35) Ueda, G. (1965) *Proc. Internat. Union Physiol. Sci.*, **7**, 444

- 36) Ueda, G., Beppu, H. & Beppu, Y. (1971) Proc. Internat. Union Physiol. Sci., **9**, 573
- 37) 上田五雨, 別府穂積 (1971) 筋収縮弛緩の波形分析. 日本生理誌 **33**, 470
- 38) 上田五雨, 別府穂積 (1972) 3種類の筋収縮の型について. 日本生理誌 **34**, 245
- 39) 上田五雨, 別府穂積 (1972) 筋収縮様式の分類法とその実例. 日本生理誌 **34**, 385
- 40) 上田五雨 (1972) 薬物作用論. 現代医療 **4**, 1027-1029
- 41) 上田五雨 (1973) 生体内電解質溶液論. 現代医療 **5**, 159-161
- 42) 八木康一 (1956) Actomyosin と ATP の相互作用. 生体物理化学シンポジウム, 第1集 南江堂 123-139



## Lysine-Sephadex chromatography による大分子量 plasminogen proactivator の低分子化 612.115-085

山本 順一郎, 永松 陽子  
(神戸学院大学栄養学部生理学研究室)

**A small molecule proactivator of plasminogen derived from the macromolecule one by Lysine-Sephadex chromatography** Jun-ichiro YAMAMOTO and Yoko NAGAMATSU (*Laboratory of Physiology, Faculty of Nutrition, Kobe-Gakuin University, Kobe*)

There are many disputes about the activation mechanism of fibrinolysis in human plasma by streptokinase (SK). The dispute has been focussed on the mode of action of SK. That is, whether SK reacts directly with plasminogen itself or SK reacts with the factor (proactivator of plasminogen), different from plasminogen.

Takada et al.<sup>16)17)</sup> gel filtrated human plasma through Sephadex, obtaining two kinds of SK responsible factors with different molecular weights. Their further investigation into the factors<sup>19)20)</sup> proved the macromolecular factor to be proactivator, different from plasminogen. But the relationship between this proactivator of plasminogen and the small molecule proactivator of plasminogen remains obscure.

The aim of the present paper is to clarify whether the macromolecule proactivator of plasminogen (proactivator A) may shift to the small one (proactivator B). The authors gel filtrated human plasma fraction I through Sephadex to obtain proactivator A and B, successively fractionating these proactivators of plasminogen by Lysine-Sephadex chromatography, and re-gel filtrating by Sephadex. The result obtained indicated that proactivator A became a smaller one having the same molecular weight as that of proactivator B, and that both proactivator A which became smaller and proactivator B showed about 100,000 in molecular weight after gel filtration.

These results seem to lead to the conclusion that the basic proactivator in human plasma may be proactivator B with the molecular weight of 100,000.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1974) 176-185〕

**key words** : plasminogen-proactivator, proactivator, streptokinase, Lysine-Sephadex chromatography.

### I. 序 論

Streptokinase (SK) によるヒト血漿線溶系の活性化機序については多くの議論がある。その論点は SK が直接反応する因子を, plasminogen (Plg) そのものであるとするか, または SK 反応性因子として Plg とは別の因子である plasminogen-proactivator (Proact) を想定するかという点である。

Takada et al.<sup>16)17)</sup> は, ヒト血漿を Sephadex でゲルろ過し, SK を加えることにより線溶現象をひき起こしうる, 分子量の異なる二つの分画を得た。彼ら<sup>19)20)</sup> は分子量の大きい分画中の線

溶因子をさらに精製し, Kline の Plg と比較した。彼らの成績によれば, この因子は免疫的にも Kline の Plg とは異なり, 300,000 の分子量をもつタンパク質であり, plasminogen-activator (Plg-Act) の前段階物質, すなわち Proact であり, またこの Proact はモノマーであるという。

一方, Takada et al.<sup>18)</sup>, Yamada et al.<sup>21)</sup> は, 小児の血漿における分子量の異なるこれらの SK 反応性因子 (以後 Proact と呼ぶ) について検討した。彼らは, いずれの検体においても分子量の小さい Proact を認めえたにもかかわらず, ある検体では分子量の大きい Proact を認めることができなかった。この報告はヒト血漿中の基本的な Proact は分子量の小さい Proact

であることを示唆している。したがって、ヒト血漿中の分子量の異なる2種類の Proact 相互の関係を明らかにすることは重要な課題である。

本報告の目的は、分子量の大きい Proact が分子量の小さい Proact に移行するか否かを明らかにしようとするものである。

最近 Deutsch & Mertz<sup>7)</sup> により開発された Lysine-Sephарose は線溶因子の分離精製に非常に優れた道具である。著者らはこの Lysine-Sephарose を用いて、2種類の Proact の関係の解明を試みた。

本報告の成績では、分子量の大きい Proact は Lysine-Sephарose chromatography を行なうことにより低分子化し、分子量の小さい Proact と同じ分子量を示すようになった。なおゲルろ過により求めたこれらの Proact の分子量は共に約 100,000 であった。

## II. 材料および方法

### A. 材料

1. ウシのフィブリノーゲン (B-Fg) としては Miles Laboratory のウシ血漿 Fraction I (Lot. No. 58) を使用した。使用前に、0.04 M NaCl を含む 0.18 M 硼酸緩衝液 (pH 7.75) で 0.4% になるように溶解した。

2. ヒトのフィブリノーゲン (H-Fg) としては、ミドリ十字株式会社のヒトの血漿 Fraction I (Lot. No. 6397 A) を使用した。

3. トロンビン (Th) としては、ウシの局所用トロビン (持田製薬株式会社) を上記の硼酸緩衝液で 10 u/ml になるように溶解した。

4. Streptokinase (SK) は、Varidase (Lederle Laboratories) を 1,000 u/ml に生理食塩水で溶解した。

5. Urokinase (UK) は、ウロキナーゼ (ミドリ十字株式会社) を 250 Ploug unit/ml (以後 UK の力価はすべて Ploug unit を用いる) になるように生理食塩水で溶解した。

6. Sephadex は、Pharmacia の Sephadex G-150 および G-200 を使用した。溶出に使用した緩衝液は、0.2 M NaCl を含む 0.1 M

トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.0) である。

7. Lysine-Sephарose は Deutsch & Mertz<sup>7)</sup> の方法にしたがい、Sephарose 4 B を CNBr で活性化し、これに L-Lysine を結合させて作製した。

8. Plg を含まない B-Fg は次のようにして作製した。上記の硼酸緩衝液に溶解した 0.4% B-Fg を、同緩衝液で平衡化した Lysine-Sephарose カラムに流し、混在する Plg を Lysine-Sephарose に吸着させ、非吸着分画を Plg を含まない B-Fg とした。

9. 分子量測定のために使用したタンパク質は以下のものであった。卵白アルブミン (米山薬品株式会社, 分子量 45,000), ウシ血清アルブミン (Armour Laboratories, 分子量 67,000), ヘキソキナーゼ (Sigma, yeast type III, 分子量 96,600), 乳酸脱水素酵素 (Sigma, rabbit muscle type I, 分子量 135,000), ブルーデキストラン (Pharmacia, 分子量 2,000,000)。

10. trans-aminomethyl cyclohexane carboxylic acid (t-AMCHA) は第一製薬株式会社より提供された粉末を使用した。

11. その他使用した薬品はいずれも試薬特級品であった。

### B. 方法

#### 1. ゲルろ過

前記の Sephadex を用いて、Flodin & Killander<sup>8)</sup> の方法に準拠して行った。Pharmacia の外套管付カラムを使用し、約 10°C の冷却水を環流させながら上昇法でろ過した。分画には三田村理研株式会社の automatic fraction collector を使用した。

#### 2. 線溶 (潜在性) 活性の測定

Proact 活性の測定には、Astrup & Müllertz<sup>3)</sup> の非加熱ウシ・フィブリン (B-F) 平板を使用した。試料としては 0.1 ml の溶出液に 0.1 ml の SK (1,000 u/ml) を混和し、その 0.03 ml を上記 F 平板に滴下した。

Plg 活性の測定には、Lassen<sup>12)</sup> の加熱平板および Lysine-Sephарose chromatography により Plg を除去した B-Fg より作製した Plg

free 非加熱 B-F 平板を使用した。試料としては 0.1 ml の溶出液に 0.1 ml の UK (250 u/ml) を混和し、その 0.03 ml を上記 F 平板に滴下した。

反応はいずれも 25°C, 18時間の incubation で行い、活性は溶解面積 (横径×縦径, mm<sup>2</sup>) で表現した。加熱 B-F 平板での測定では、溶解が F 膜の厚み全体におよばない例があったが、その場合には溶解の深さの程度により、溶解面積を、2, 3または5で除した値で表現し

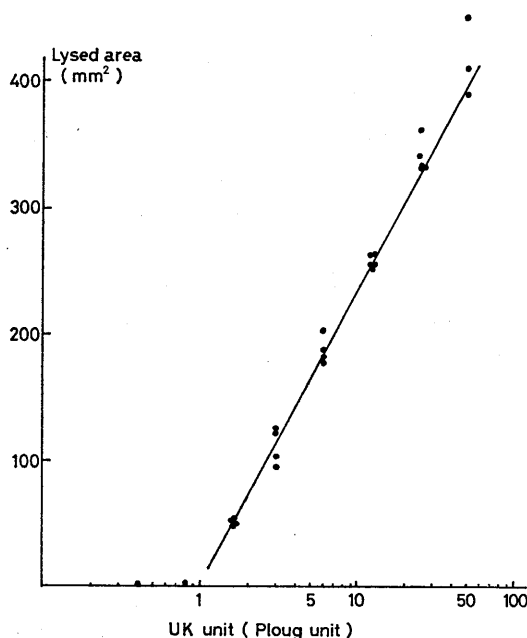


Fig. 1. Plots of UK unit (Ploug unit) against lysed area. 0.03 ml of UK solution (variable in unit) was placed on unheated bovine fibrin plate. Lysed area was measured after 18 hours at 25°C.

た。

Proact の単位は、SK で十分に活性化した Proact 被検液の Plg-Act 活性を、UK の力価標準直線を用いて UK 単位に換算して求めた。非加熱 B-F 平板の溶解面積で求めた UK の力価標準直線を Fig. 1 に示す。

Proact の力価測定に当っては、被検液に SK (1,000 u/ml) を同量混和し、その 0.03 ml が非加熱 B-F 平板で、25°C, 18時間の incubation

後に示す溶解面積を測定し、Fig. 1 の標準直線から力価を UK 換算単位として求め、これを 2 倍して被検液の Proact 活性とした。

### 3. Lysine-Sepharose を用いた affinity chromatography

ゲルろ過に用いた緩衝液で平衡化させた Lysine-Sepharose カラムにサンプルを流し、非吸着因子を同緩衝液で洗った後、0.01 M t-AMCHA を含む緩衝液で溶出した。

## III. 実験成績

### 1. AおよびB分画の作製

ヒト血漿 Fraction I 400 mg を 30 ml トリス-塩酸緩衝液に溶解して Sephadex G-200 を使用してゲルろ過を行なった。得られた溶出液のうちから、そのままでは線溶活性を示さないが、SK または UK の添加により線溶活性を示す (潜在性線溶活性) 2 種の分画が得られた。なお潜在性線溶活性の測定は前述のとおりである。用いた SK および UK は使用した分画に対して十分な活性化を起す力価であった。結果を Fig. 2 に示す。

2 種の分画のうち一方は SK により活性化されて非加熱 B-F 平板を溶解するが、加熱 B-F 平板および Plg free の非加熱 B-F 平板を溶解しない分画 (A 分画) である。他の分画は SK および UK の両者によって活性化され加熱 B-F 平板および Plg free 非加熱 B-F 平板をも溶解する分画 (B 分画) である。A 分画では SK 添加により発現する線溶活性 (SK 線溶活性と呼ぶことにする) が B 分画のそれより高かった。それにもかかわらず、この分画では UK で活性化されて加熱 B-F 平板および Plg free 非加熱 B-F 平板の溶解 (UK 線溶活性と呼ぶことにする) を認めなかった。

### 2. A および B 分画の Lysine-Sepharose chromatography

プールした 3,400 unit の A 分画および 2,100 unit の B 分画を、濃縮せずにそのまま Lysine-Sepharose のカラムに流した。このカラムはゲルろ過に用いた緩衝液であらかじめ平衡化して

ある。非吸着因子を同緩衝液で洗い、その後吸着因子を 0.01 M t-AMCHA を含む同緩衝液で溶出した。

吸着因子の溶出剤としては種々のものを比較

検討したが、溶出が完全である、溶出液を酸性にせずに使用できる、という 2 点で t-AMCHA が優れていた。したがって本実験ではこれを使用した。線溶活性の測定は前述の方法にしたが

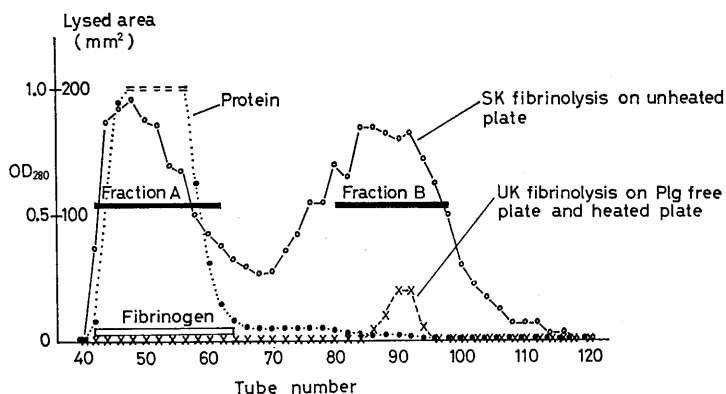


Fig. 2. Sephadex G-200 gel filtration pattern (upward elution) of human plasma fraction I. Fraction I (400 mg/30 ml Tris-HCl buffer) was gel filtered through Sephadex G-200 at 10°C. Tube No. 42-62 were mixed and termed Fraction A. Tube No. 80-98, Fraction B. Column dimension : 5.0 × 67 cm. Eluant : 0.2 M NaCl in 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0). The amount taken in a tube was about 10 ml each. Mean flow rate : 35 ml/hr. Ordinate : Optical density at 280 nm and lysed area. Lysed area represents the mean value of duplication. Abscissa : Tube number.

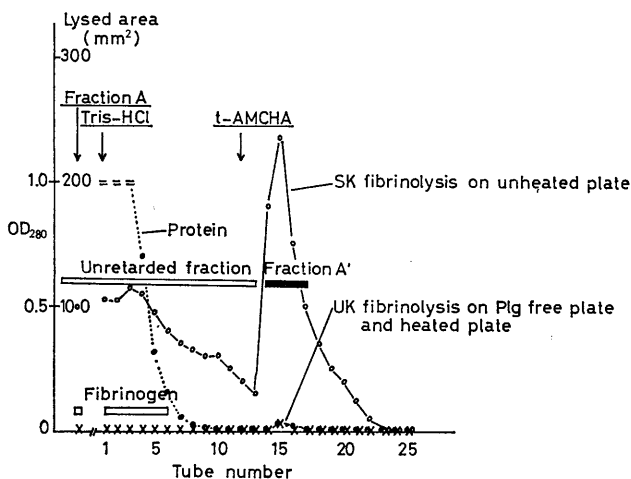


Fig. 3. Lysine-Sepharose chromatogram of Fraction A. Pooled Fraction A (3,400 Ploug unit) was applied to the column of Lysine-Sepharose. The retarded fractions (tube No. 14-17) were mixed and termed "Fraction A'". Column dimension : 1.1 × 11 cm. Eluant : 0.2 M NaCl in 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0). Eluate : 0.01 M t-AMCHA in the buffer. The amount taken in a tube was 3 ml each. Mean flow rate : 20 ml/hr. Ordinate : Optical density at 280 nm and lysed area. Abscissa : Tube number.

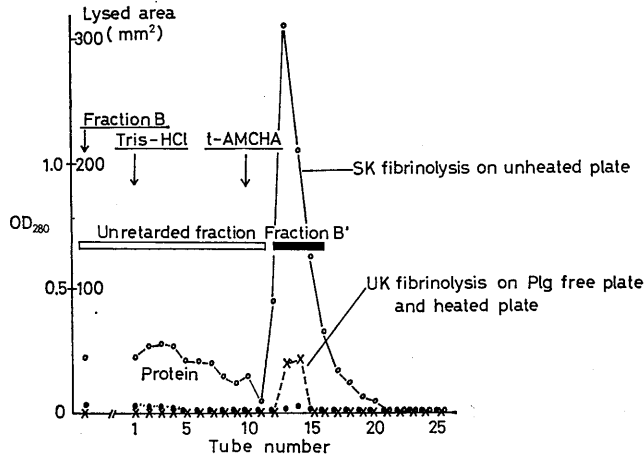


Fig. 4. Lysine-Sephrose chromatogram of Fraction B. Pooled Fraction B (2,100 Ploug unit) was applied. The retarded fractions (tube No. 12-16, "Fraction B'"). Column dimension: 1.1×11 cm. Eluant: 0.2M NaCl in 0.1M Tris-HCl (pH 8.0). Eluate: 0.01M t-AMCHA in the buffer. The amount taken in a tube was 3 ml each. Mean flow rate: 20 ml/hr. Ordinate: Optical density at 280 nm and lysed area. Abscissa: Tube number.

った。t-AMCHA を含む溶出液の線溶活性は、t-AMCHA を除かずにそのまま測定した。

結果を Fig. 3 および 4 に示す。A および B 分画中の Proact は Lysine-Sephrose に吸着され、t-AMCHA によって溶出された。この分画を A' および B' 分画と呼ぶ。

Proact A および B を濃縮せずにそのまま Lysine-Sephrose chromatography を行なったのは、濃縮後に Lysine-Sephrose に流した場合には、吸着されない Proact が増加するという成績が予備実験で得られていたからである。

3. A' および B' 分画の Sephadex G-150 による再ゲルろ過

A' および B' 分画を濃縮せず、各々をそのまま Sephadex G-150 によりゲルろ過した。結果を Fig. 5 および Fig. 6 に示す。

Fig. 5 のゲルろ過パターンにみられるように、分子量大の A 分画の Lysine-Sephrose chromatography により得られた A' 分画の Proact は、A 分画中の Proact より低分子となっていた。一方、B 分画から得られた B' 分画は Lysine-Sephrose chromatography 後に

も、この操作前と同じ分子量を示した。

活性のピークまでの溶出量を計し、予め分子量既知のタンパク質で作成した溶出量-分子量標準直線から、A' 分画および B' 分画の分子量を求めた。それらの分子量は共に約 100,000 であった。

B' 分画のゲルろ過では、SK 線溶活性のピークを示す分画中に UK 線溶活性も認められた。しかし、A' 分画のゲルろ過では UK 線溶活性はまったく認められなかった。

Fig. 1 の UK 力価-溶解面積標準直線を用いて各実験段階での Proact 活性を求めた。吸着 Proact の全活性は、Fig. 5 および 6 より次のようにして求めた。Fraction collector の各 tube 中の Proact 活性を前記の方法で求め、この値 (unit/ml) に各 tube 中の試料の量 (ml) をかけて各 tube の Proact 活性とした。次いで各 tube の Proact 活性を加算して吸着全 Proact 活性とした。

出発 A および B 分画の全 Proact 活性、非吸着全 Proact 活性も同様に、力価 (unit/ml) に volume (ml) をかけて求めた。結果を Table 1 に示す。

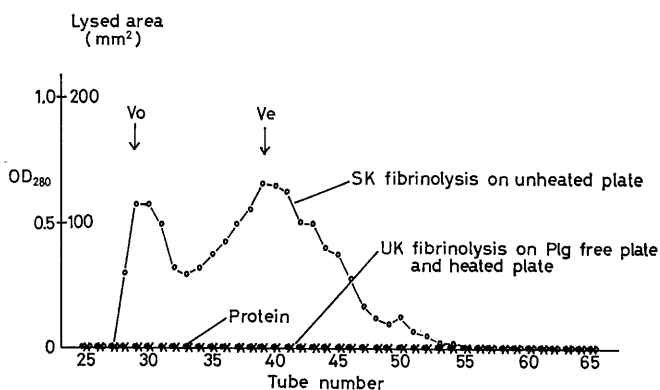


Fig. 5. Sephadex G-150 gel filtration pattern (upward elution) of Fraction A'. Fraction A' was gel filtrated through Sephadex G-150 at 10°C. Column dimension : 2.6×74 cm. Eluant : 0.2 M NaCl in 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0). The amount taken in a tube was about 5 ml each. Mean flow rate : 16 ml/hr. Ordinate : Optical density at 280 nm and lysed area. Lysed area represents the mean value of duplication. Abscissa : Tube number. Vo : void volume. Ve : elution volume of plasminogen proactivator.

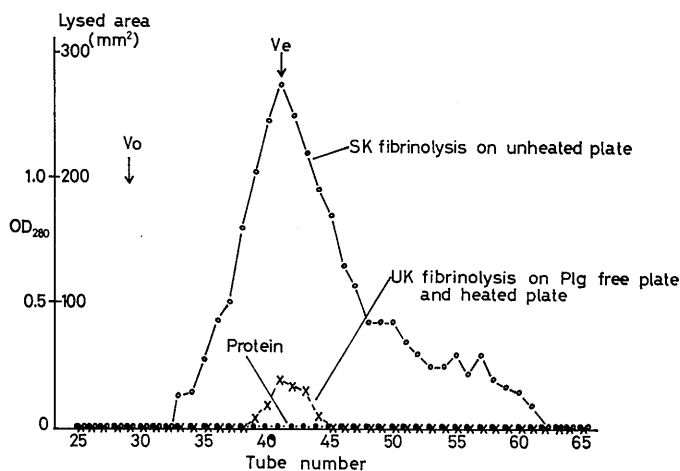


Fig. 6. Sephadex G-150 gel filtration pattern (upward elution) of Fraction B'. Fraction B' was gel filtrated through Sephadex G-150 at 10°C. Column dimension : 2.6×74 cm. Eluant : 0.2 M NaCl in 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0). The amount taken in a tube was about 5 ml each. Mean flow rate : 16 ml/hr. Ordinate : Optical density at 280 nm and lysed area. Lysed area represents the mean value of duplication. Abscissa : Tube number. Vo : void volume. Ve : elution volume of plasminogen proactivator.

Table 1. Recovery of activity

starting fraction	applied Proact (Ploug unit)	unretarded Proact (P.U.)	retarded Proact (P.U.)
Fraction A	3,375 (100%)	890 (26%)	495 (15%)
Fraction B	2,100 (100%)	440 (21%)	1090 (52%)

Sephadex G-150 による再ゲルろ過で得られた A および B 分画の全 Proact 活性を比較した。B 分画では回収率が出発分画の 52% であったが、これに対して、A 分画では 15% という低い値を示した。しかし両分画とも非吸着全 Proact 活性においてはそれほどの差は認められなかった。

#### IV. 考 察

Streptococcus の生産する SK はヒト血漿に作用させると著明な線溶作用をおこす。この SK の作用機序について、Astrup & Permin<sup>2)</sup> は、はじめ Fig. 7 (a) の scheme のように、SK が Plg を Pl に活性化する、とする仮説を提出した。しかしこの scheme では、SK による線溶系の活性化についての多くの実験成績を

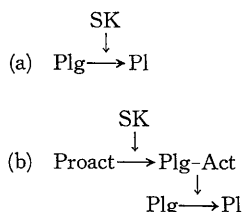


Fig. 7

十分に説明することができなかった。そこで Astrup<sup>2)</sup> は、scheme (b) のように、SK がまず plasminogen-activator (Plg-Act) の前段階物質 Proact を Plg-Act に活性化し、この Plg-Act が Plg を Pl に活性化する、という 2 段階説を提唱した。この (b) の scheme によって、多くの実験成績が矛盾なく説明できるようになった。

しかし、ここに仮定された Proact は、Plg とは別個の因子として実証されたものではなかった。したがって、この方面の研究は、必然的に Proact と Plg との分離という方向に向っていった。しかし、精製された Plg にもなお粗製 Plg と同じく、Astrup のいう Proact の作用が認められた。この事実から、Ablondi & Hagan<sup>1)</sup>, Sherry et al.<sup>15)</sup> は Proact の存在につ

いて疑問を投げかけた。さらに Plg-Act の生成機序について、Kline & Fishman<sup>11)</sup>, Blatt et al.<sup>4)</sup> は “Plg-Act は Pl と SK との 1:1 の complex である” とする仮説を提出した。また一方、Ablondi & Hagan<sup>1)</sup>, De Renzo et al.<sup>6)</sup>, Davies et al.<sup>5)</sup> は、 “Plg-Act は Plg と SK との 1:1 の complex である” とする仮説を提唱した。

このような一連の研究により、Plg または Pl との独立の因子としての Proact の存在は否定されたかのようにみえた。しかし一方では、独立の因子としての Proact の存在を肯定しなければ説明されがたい事実も報告され、今日に到っている。

すなわち、Greig & Cornelius<sup>9)</sup> は、ヒト血漿から、酸処理、エーテル抽出によりある分画を得た。この分画は、SK によって活性化され、B-F 平板 (Plg rich) を溶解した。しかし SK のみならず UK 添加によっても、Plg の存在なしにはカゼイン分解を起さなかった。したがってこの分画は、事実上 Plg を含まず、Proact を含む分画であると彼らは主張した。またさらに彼ら<sup>10)</sup> は、Kline の Plg の精製法のある段階で Proact rich Plg 分画と Proact poor Plg 分画が得られることを示した。この事実には、両者間の相互関係には問題が残るが、Proact と Plg とは別個の因子であることを示唆している。

Takada et al.<sup>16)17)</sup> は、乾燥ヒト血漿をゲルろ過し、分子量の異なる Proact を含むと考えられる 2 種類の分画を得た。はじめに溶出される分画 (A 分画) は SK 活性化により非加熱 B-F 平板を溶解した。しかし SK, UK いずれを添加しても加熱 B-F 平板を溶解しなかった。したがって、彼らはこの分画中には Plg とは独立した因子としての Proact が含まれるとした。

さらに Takada et al.<sup>19)20)</sup> は、A 分画について研究を進めた。A 分画中に含まれる SK に反応する物質、すなわち Proact (Proact A) は、SK 存在下に測定したフィブリン分解、カゼイン分解、TAME 分解に対する態度から、Kline

& Fishman, De Renzo et al. のいう Pl あるいは Plg とは異なることを示した。また Kline のヒト Plg の分子量が 89,000 であるのに対して Proact A は 300,000 であること、免疫的に Kline のヒト Plg と異なることも示した。さらにゲルろ過および超遠心のパターンから Proact A はモノマーであり、Plg の集合により形成されたものではないと報告した。したがって、Proact A は、Plg とは全く独立した因子であることが示された。

これらの成績から、Proact が Plg とは別個の因子としてヒト血漿中に存在することは明らかにされたが、Proact A と Proact B との相互関係についてはなお疑問が残されていた。

Takada et al.<sup>18)</sup> によれば、同一被検児においても、Proact A と Proact B の比率は、生後日数により異なるという成績が出されている。また、成人の新鮮血漿では Proact A は全く認められないか、わずかに認められるにすぎないが、同一血漿から等電点沈殿で得た euglobulin には Proact A が増加するという現象はしばしば認められるところである。これらの事実はヒト血漿中の 2 種の Proact 間の相互移行の可能性を示唆している。

著者らは、本論文の実験で、Lysine-Sepharose chromatography により、Proact A から、より低分子量の Proact をうることに成功した。

Proact A を多量にうるため、出発素材としてヒト血漿 Fraction I を用いた。Fig. 5 から明らかなように Proact A の大部分は Lysine-Sepharose chromatography により低分子となり、Proact B の分子量と等しくなった。ゲルろ過により求めた低分子化した Proact A および Proact B の分子量は約 100,000 であった。この結果は Proact A と B の違いはみかけ上のものであり、ヒト血漿中の基本的な Proact は Proact B であることを示している。

Proact B の Proact A への分子量増加の機序については次のような可能性が考えられる。

1) Plg とは別の因子である Proact B と他の

タンパク質との結合による、2) Proact B の重合による、3) Plg の重合による：Plg の重合により UK 反応部位が隠され Plg 活性は消失するが、SK 反応部位は残り Proact 活性は残存する、という考え方である。

Fig. 3 および Fig. 5 から明らかなように低分子化した分画には Plg 活性が認められない。また Fig. 3 ではほとんどのタンパク質が非吸着分画にあり、B' 分画のタンパク量が著しく減少している。これらの事実から、2) および 3) の機序は考えにくい。また、Takada et al.<sup>18)</sup>, Yamada et al.<sup>21)</sup> の研究を合わせ考えると、1) の機序が本実験の成績を矛盾なくより自然に説明できるように考えられる。

B 分画は UK で活性化され Plg free の B-F 平板を溶解する。岡本<sup>14)</sup> は B 分画からゲルろ過により Proact free の Plg を得た。この Plg は UK のみならず、SK により活性化された Proact A 由来の Plg-Act によっても活性化された。しかし、SK そのものでは活性化され Pl を生成することがなかった。したがって B 分画には Proact と Plg の両者が存在すると考えられる。しかし、著者が述べているように、Proact free Plg を常に得られるとは限らない。この再現性に問題が残る。したがって Plg を Proact から分離することには今後なお分離条件の検討が必要である。また、著者<sup>22)</sup> は B 分画を SK で活性化した後ゲルろ過およびディスク電気泳動を行い、Plg-Act と Pl を分離し、それぞれの分子量を求めた。この成績も B 分画に Proact と Plg の両者が存在することを示唆している。

Proact はその環境条件により、他のタンパク質と結合しやすくなる性質をもつものである。この点は Plg と異なる点であり、これが Proact A 形成の原因となる性質であろう。

Proact A の素材としてヒトの血漿 Fraction I を用いた場合の活性の recovery を Table 1 に示したが、大分子化した Proact は再び元の分子量にかえることにより多くの活性を失った。非吸着分画の活性については Proact A お

よびBもほぼ同じ値を示した。しかし、新鮮血漿より得た euglobulin からの Proact A およびBの場合には、全活性が吸着分画に認められた。また本実験では Fig. 5 が示しているように活性の約1/4の Proact が大分子のままに残った新鮮血漿より作製した euglobulin では大分子量の Proact は全て低分子となった。

Fraction I では、その精製過程に Proact と他のタンパク質との強い結合が、また構造変化がおこったために、このような結果が得られたものと考えられる。新鮮 euglobulin に比べて、Fraction I はこのような不利な点をもってはいるが、多量の Proact A をうるには適切な材料であるために、本報告ではこれを用いた実験について記載した。

## V. 総 括

1. ヒト血漿 Fraction I を Sephadex G-200 でゲルろ過して、分子量の異なる2種類の Proact, Proact A および B, を得た。Proact A はBより非加熱 B-F 平板での SK 線溶活性が強いにもかかわらず、Plg free B-F 平板および加熱 B-F 平板で UK 線溶活性を示さなかった。

2. Proact A および B の Lysine-Sepharose chromatography を行った。その結果、Proact A のほとんどは低分子化し、Proact B と同じ分子量 (約100,000) となった。

3. 低分子化した Proact A には UK 線溶活性が認められなかった。

4. Proact A は低分子になることにより不安定となった。

以上の成績は Proact A と B の違いはみかけ上のものであり、ヒト血漿中の基本的な Proact は Proact B であること、および Plg とは別の因子としての Proact の存在を示している。

本論文の要旨は、昭和48年4月、第50回日本生理学会総会、昭和48年11月、第13回プラスミン研究会において報告した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った岡本歌子教授に深甚なる謝辞を捧げると共に、堀江登

助手、小島正子夫人、三原京子嬢の御協力に感謝の意を表す。

## 文 献

- 1) Ablondi, F. B. & Hagan, J. J. (1957) Comparison of certain properties of human plasminogen and "proactivator". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **95**, 195-201
- 2) Astrup, T. (1956) Fibrinolysis in the organism. *Blood* **11**, 781-806
- 3) Astrup, T. & Müllertz, S. (1952) The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochim. Biophys.* **40**, 346-351
- 4) Blatt, W. F., Segal, H. & Gray, J. L. (1964) Purification of streptokinase and human plasmin and their interaction. *Thromb. Diath. Haemorrh.* **11**, 393-403
- 5) Davies, M. C., Englert, M. E. & De Renzo, E. C. (1964) Interaction of streptokinase and human plasminogen. *J. Biol. Chem.* **239**, 2651-2656
- 6) De Renzo, E. C., Barg, W., Boggiano, E., Englert, M. E. & Davies, H. C. (1963) Interaction of streptokinase and plasminogen. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **12**, 105-110
- 7) Deutsch, D. G. & Mertz, E. D. (1970) Plasminogen: Purification from human plasma by affinity chromatography. *Science* **170**, 1095-1096
- 8) Flodin, P. & Killander, J. (1962) Fractionation of human serum proteins by gel filtration. *Biochim. Biophys. Acta* **63**, 403-410
- 9) Greig, H. B. W. & Cornelius, E. M. (1962) Isolation of material with proactivator activity from human serum. *Nature* **187**, 1125-1126
- 10) Greig, H. B. W. & Cornelius, E. M. (1962) Isolation of a proactivator from human plasma fraction III. *Biochim. Biophys. Acta* **57**, 617-619
- 11) Kline, D. L. & Fishman, J. B. (1961) Proactivator function of human plasmin as shown by lysine esterase assay. *J. Biol. Chem.* **236**, 2807-2812
- 12) Lassen, M. (1952) Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. *Acta Physiol. Scand.* **27**, 371-376
- 13) Okamoto, U., Takada, Y. & Takada, A. (1966) Plasminogen free proactivator B obtained from human plasma. *Keio J. Med.* **15**, 25-34
- 14) 岡本歌子 (1972) 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. *日本生理誌* **34**, 147-155
- 15) Sherry, S., Fletcher, A. P. & Alkjaersig, N. (1964) Fibrinolysis and fibrinolytic activity in

- man. *Physiol. Rev.* **39**, 343-382
- 16) Takada, A., Takada, Y. & Okamoto, U. (1964) Fractionation of plasminogen activator and proactivator in tissue and body by gel filtration. *Keio J. Med.* **13**, 187-197
- 17) 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
- 18) Takada, Y., Takada, A., Okamoto, U. & Yamada, K. (1965) The interesting variation of proactivator of plasminogen in an early infant. *Keio J. Med.* **14**, 161-165
- 19) Takada, A., Takada, Y. & Ambrus, J. L. (1970) Streptokinase-activatable proactivator of human and bovine plasminogen. *J. Biol. Chem.* **245**, 6389-6396
- 20) Takada, A., Takada, Y. & Ambrus, J. L. (1972) Further studies of plasminogen proactivator. *Biochim. Biophys. Acta* **263**, 610-618
- 21) Yamada, K., Tsuchiya, Y. & Nakamura, B. (1966) Studies on the plasminogen proactivator of plasma in children with hemorrhagic disorders. *Keio J. Med.* **15**, 35-43
- 22) 山本順一郎 (1974) ヒト血漿の SK 反応性 B 分画からの plasmin および plasminogen-activator の分離. *日血誌* **37**, 42-55



神経の不応期, 過常期に関する研究 (I) 612.816-083  
坐骨神経と電氣的神経模型の不応期の比較

松本政雄, 北村奉正, 半場道子  
(群馬大学医学部第一生理学教室)

**Studies on the refractory period and the supernormal phase of the nerve fiber** Masao MATUMOTO, Takamasa KITAMURA and Michiko HANBA  
(Department of Physiology, School of Medicine, Gunma University, Maebashi, Japan)

As experimental materials using the sciatic nerve of the bullfrog and the electric nerve model (ENM) devised by Matumoto et al., the refractory period and the supernormal phase of the nerve fiber and ENM were compared. The circuit used for application of the current and leading out the action potential or the potential change elicited in the material was the same in its principle with that used by Tasaki in the experiment on Ranvier's node.

The experimental results, namely the threshold variation (refractory period or supernormal phase) which occurred during or after the action potential or after the application of the depolarizing or hyperpolarizing current was the same both on the sciatic nerve and ENM. From these results, the following was introduced: —ENM was an artificially composed physical system, so the origin of the threshold variation in these cases would be elucidated by analysis of the current flow in each component of ENM considering no direct reference to the chemical reaction, and the obtained result would be applied to the refractory period or supernormal phase of the nerve or nerve fiber.

[J. Physiol. Soc. Japan (1974) 36, 186-198]

**key word** : refractory period of nerve and ENM.

I. 緒 言

神経ないし神経線維に興奮が起った場合に、次の刺激に対し全く反応しない期間、または正常の場合より反応に応じ難い期間があって、前者は絶対不応期、後者は相対不応期と呼ばれる<sup>5)8)12)13)</sup>。また不応期とは逆に正常の場合より刺激に対して反応し易い期間も存在しこの期間は過常期と呼ばれる<sup>5)</sup>。刺激閾の大、小を以って表わせば不応期(相対)は刺激閾が正常の値より大、過常期はそれが小である期間に当る。絶対不応期の存在、そのよって起こる機序等については学者により見解の一致がみられていないようである。さて不応期が現われる理由、またはその機序について古典的、素朴的な解釈によれば、興奮によって蓄積されていた energy が消耗され、それが再び元の状態に戻るに要する期間が不応期であると考えられてきた。Hodgkin 等の ion 説<sup>1)2)</sup>に従えば、興奮性膜が

一度 active になつたあと reset または repolarization が完了するまでの期間と考えられている。しかし、これらはいずれも抽象的であり仮説の域を脱しない。

松本等<sup>3)4)6)</sup>は電氣化学的興奮模型の研究から不応期の原因は、興奮中に発生し、静止状態への回復のために作用する物質(興奮模型では発生機の酸素)が蓄積し、この物質の存在が興奮性膜の消失を困難にするためであると報告している。すなわち、正常の場合より、この物質がより多量に存在している期間が不応期であるという。このことは電氣化学的興奮模型においては実験的に確められた事実であるが、これが不応期に対する唯一の原因であるか否かは未決定である。その他不応期に関する報告<sup>10)14)15)16)17)</sup>は古くから多数あるが、いずれもその消長に関するものが多く、不応期の原因を確かめるための企てはほとんどみられない。したがって、不応期の起る理由については今日においてもなお不明のまま残された課題である。

著者等が最近報告した電氣的神経模型 (EN-

M)<sup>7)</sup>は神経線維の等価回路を実験的に構成したものである。しかし ENM は現在まで知られた神経線維の電気的性質および神経線維に現れる電気現象に関する限りほとんどすべての点において神経線維と大体同様の性質を示し同様に振舞うことが確められた。したがって不応期、過常期等についても神経線維等におけると大体同様に現われることはすでに知られていたが、これらの現象について ENM と坐骨神経の両者における発現の状況を詳細に比較検討してこれらに関する成因の解明に資することを企てた。本報告は主としてこの実験結果の報告である。

## II. 実験方法

### A. 実験材料

実験材料として用いたのは食用ガエルの坐骨神経と電気的神経模型 (ENM)<sup>7)</sup>であって、それらの取り扱い方法等は下のごとくであった。

1. 坐骨神経は常法にしたがって取り出し、Ringer 液中に浸し全長約 4 cm 程度長さにして隔絶箱に固定した。隔絶箱 (Fig. 1) は田崎<sup>15)</sup>、大山<sup>9)</sup>等が有髄神経線維の Ranvier の絞輪を用いて行った実験の場合と原理において同様になるように、坐骨神経を三つの室にまたがって固定した。隔絶箱に固定した神経について A と B, A と C の間は空気中にあるようにして乾燥させるか、またはアルコール等を用いて興奮伝導が起らないようにした。A, B および C の 3 室には面積の広い純銀板の電極を浸しこれらの端を刺激および誘導回路の所定の端子に連結した。なお A 室には Ringer 液, B, C 室には KCl 溶液を入れた。この際 A は神経線維の外側, B および C は内側に相当する部と見なしうるので神経線維の内側, 外側から刺激電流等を適用し, 内側と外側から活動電位等を導く場合と同様の状態になると考えられる。

2. 坐骨神経と併せ用いた ENM は Fig. 2 の右に示されたようなものであって、図にみられるごとくの構成は神経線維の実験的等価回路である。外側にあたる上端と内側にあたる下端から刺激電流を送り、あるいは活動電位等の電

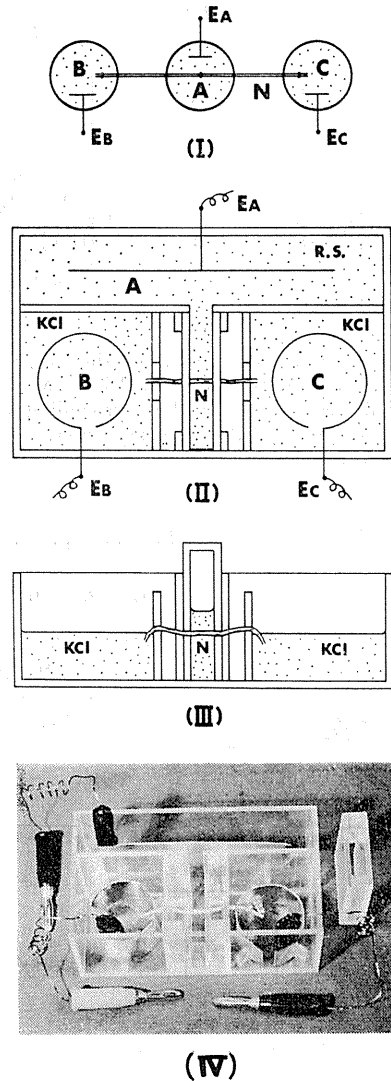


Fig. 1. Isolating box with the sciatic nerve set through the isolating walls. (I), Tasaki's method used for leading off the action potential of the single node of Ranvier. (II), plane view of the isolating box used in the experiment. (III), side view of the isolating box without silver electrodes. (IV), photograph of the isolating box (see text).

気的変動を誘導した。ENM はすでに述べたごとく、神経ないし神経線維において知られている電気現象をほとんどあますところなく発現する電気回路で不応期、過常期等と同様の現象も現われるので神経線維における不応期、過常期によつて起る原因を追求するため、まず ENM と坐骨神経においてこれらの現象が発現する状

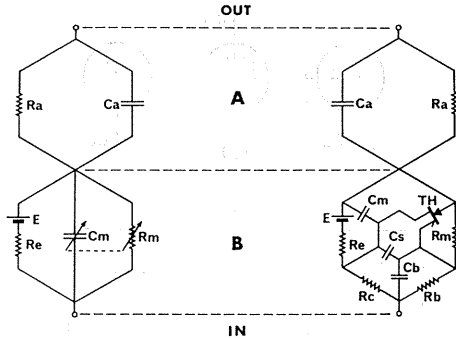


Fig. 2. Equivalent circuit of the nerve fiber (left) and the electric nerve model, ENM (right). A: equivalent circuit of the surrounding tissue of the nerve fiber. B: equivalent circuit of the excitable membrane.

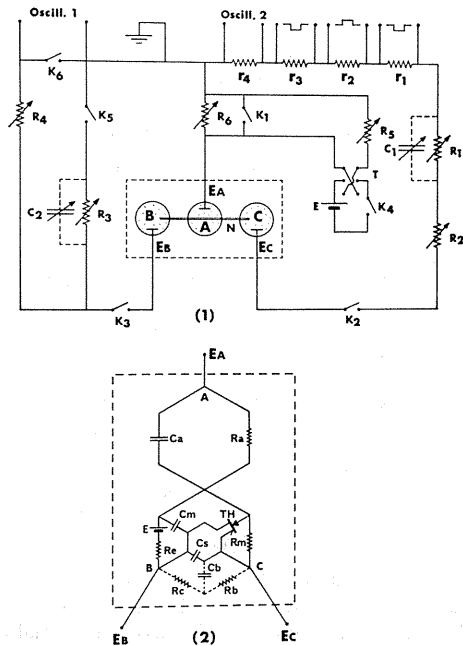


Fig. 3. Circuit used for application of the current to the nerve or ENM and for leading off the potential change (1) and the connection of ENM to the circuit (2) (see text).

態を比較した。

B. 電流適用および電氣的変動の誘導回路  
坐骨神経を隔絶箱に固定し、三つの電極  $E_A, E_B, E_C$  のうち  $E_A-E_C$  から刺激電流を適用し、現れる電氣的変動は  $E_A-E_B$  から誘導、記録する。このために用いた回路は Fig. 3 (1) のごと

きものであった。この回路は大山<sup>9)</sup>が Ranvier 絞輪について行った実験に用いたものとその原理は同様であって、 $E_A-E_C$  から適用した電流は直接誘導回路  $E_A-E_B$  に現れる量が少なく、被検体の内部に発現した電位は比較的大きく導くことができる回路である。刺激電流等を適用する回路の抵抗  $R_1$ 、電位変動を導く回路の短絡抵抗  $R_3$  に並列にそれぞれ電気容量  $C_1, C_2$  を連結したがこれらは実験の種類によって使用したものである。また抵抗  $R_6$  に適当な電圧をかけ、被検体および電極に現れる電位の補償、あるいは記録された電圧の較正值をうるための補助回路とした。抵抗  $R_6$  は可及的小さい値としたがこの回路を使用しない場合は電鍵  $K_1$  によって短絡した。一般に神経線維等から活動電位を導く場合は短絡抵抗の存在は不可避であるので、本誘導方法でも抵抗を設けた。実験によっては任意の期間と電圧の三つの矩形波を任意の間程で与えることが必要であったので、これらを三つの stimulator (isolator) から与えることができるように、それぞれに対する端子を設けた。なお適用した各電流の大きさ、期間を check するため oscilloscope に連結する端子も設けた。隔絶箱に固定した坐骨神経を用いた場合、あるいは ENM を用いた場合いずれもこの回路によった。大多数の実験において ENM は  $R_b=0, C_b=0, R_c=\infty$  とし、刺激電流等は A と C から、活動電位等の誘導は A と B から行った (Fig. 3 (2)). 活動電位等の記録は時標として 1000 cps の交流、適用した電流の期間、方向、大きさを示す trace と共に oscilloscope を用いて記録した。

### III. 実験成績

実験成績はすべて坐骨神経および ENM を材料として用いた両実験の結果を比較対照した。また特にことわりのないときは、両者における結果が同様であることを意味し、両者において成績が異なる場合についてだけこれを明記することにした。なお相対不应期、過常期等については、それぞれ通常の場合より刺激閾が高い期間

および刺激閾が低い期間であると述べたが、実験においては刺激閾の大きさを実際に測定した場合、あるいは同一の電流(強さと期間)を用いて現われる活動電位が小さい場合は閾が大で、それが大きい場合は閾が小であるとみなした。なお刺激閾を云々する場合にはすべて脱分極電流によって現われる反応を目標にした。

A. 単一興奮のあとの刺激閾

1. 脱分極電流によって起る単一興奮のあ

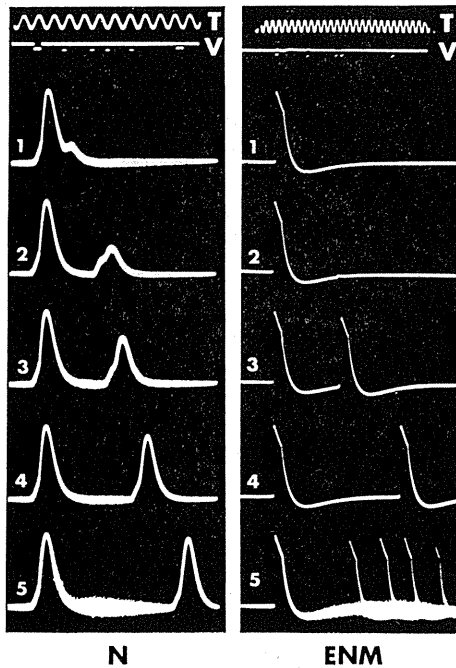


Fig. 4. Action potential (AP) or potential change elicited by the definite stimulating current applied at a different time point after the action potential elicited by the stimulation of the cathodic pulse near the threshold. Records above N and ENM in the figure are records obtained on the sciatic nerve and ENM respectively (the same in the following figures).

	In records N	In records ENM
Stimulating pulse	40mV, 0.5msec	280mV, 0.2msec
Test pulse	40mV, 0.5msec	280mV, 0.2msec
Interval between pulses	1. 1.5msec	5msec
	2. 3.5msec	10msec
	3. 4.5msec	12msec
	4. 6 msec	20msec
	5. 9 msec	

との刺激閾の状態をみるに、活動電位の下降枝の終りに近い点において刺激閾が最も高く、その時点からの期間が長くなるにしたがって低くなり、ついに通常の状態に戻った (Fig. 4). 活動電位の上昇枝および下降枝の始めの時点における刺激閾については第2の電撃 (test pulse) による反応の大きさを定めることが困難で刺激閾を定め難かった。すなわち、活動電位の上昇枝の最後の部分と下降枝の始めの部分に加えられた電撃に対する反応は、電撃が相当強い場合でも活動電位の経過にわずかな変化が生ずるだけであったのでその電撃に対する反応であるとはっきり認め難かった。このような期間は絶対不応期と見なされるべきであろう。絶対不応期に関する詳細は改めて報告する予定であるのでこれ以上のことは省略する。

なお、上述し、あるいは以下に述べる神経についての実験成績は従来一般に知られた事実であり、また単一有髄神経の Ranvier の絞輪について行われた田崎<sup>15)</sup>、大山<sup>9)</sup>等の報告とも一致する結果であるが、ENM についての実験成績と比較するために実験結果を示したものである。

2. 陽極開放興奮の後の刺激閾；脱分極電流によって起った興奮も陽極開放刺激によって起った興奮も興奮そのものに違いがあるとは考えられないから、興奮が起った後の刺激閾の上昇、すなわち相対不応期等についても同様であると推定される。従来陽極開放興奮後の相対不応期について特に報告が見られないのはこの理由によるのかもしれない。著者等が陽極開放興奮後の刺激閾について行なった実験結果は Fig. 5 に示すごとく脱分極電流刺激によって起った興奮後の状態と異なった点はみられなかった。電流開放によって最大の spike が現われない場合には、神経線維のうちに興奮しないものが残っているためと思われるが、電流開放後に現われた活動電位の下降枝の終りに近い時点で与えられた刺激に対して大きい活動電位が現われ、それより後に反応が小さい時期があって再び大になり、その後は一定の大きさになった (Fig. 6).

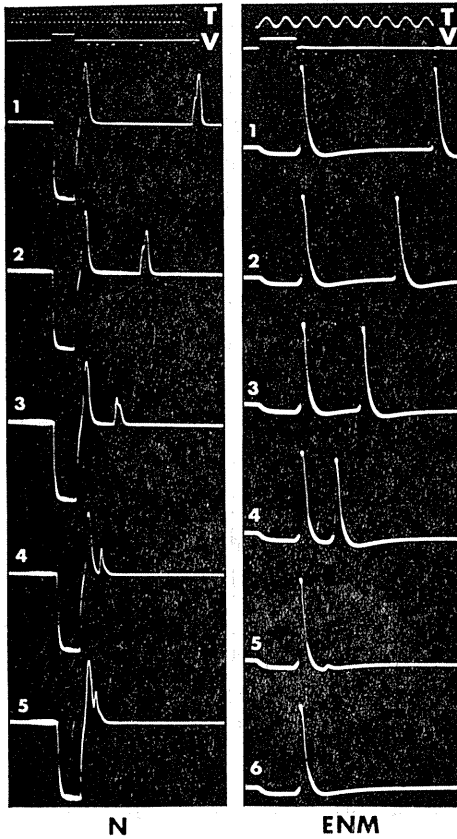


Fig. 5. AP or potential change elicited by the definite stimulating current applied at a different time point after the action potential of the maximum size elicited by the break of anodic current.

	In records N	In records ENM
Hyperpolarizing pulse	100mV, 5msec	190mV, 2msec
Test pulse	38mV, 0.5msec	110mV 0.2msec
Interval between pulses	1. 25msec 2. 14msec 3. 8msec 4. 5msec 5. 3msec 6. —	7 msec 5 msec 3 msec 1.7msec 1.3msec 0.7msec

しかし ENM は単一興奮体に相当するものであるから一度興奮した後その直後における刺激閾がその時点よりさらに後の時点における刺激閾より低い場合すなわち Fig. 6 に示されたような現象はみられないで常に Fig. 5 に示されたような結果がえられた。

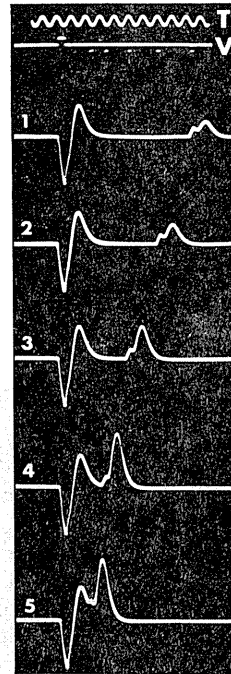


Fig. 6. AP or potential change of the sciatic nerve elicited by the definite stimulating current applied at a different time point during or after the action potential elicited by the break of anodic current of medium intensity. Hyperpolarizing pulse : 60 mV, 0.3 msec. Test pulse : 40 mV, 0.2 msec. Interval between pulses : 8.5, 6, 4, 2.2 and 1.5 msec in 1, 2, 3, 4 and 5 respectively.

この理由は説明するまでもないが、次のごとくである。坐骨神経に極大刺激に達しない強度の刺激電流を加えれば刺激閾を異にする神経線維が含まれているため、その刺激に対して興奮しない線維も残る。これらの線維は極大刺激に達しない第1の刺激電流が終って間もなく与えられる第2の刺激電流に対して刺激作用の加重のため正常の場合より刺激閾が低いか、刺激作用の加重が起らない場合でも第2の刺激電流に対して第1の刺激電流によって興奮し、相対不応期にある線維より刺激閾は低いであろう。このような線維がある数存在すればすべての線維が第1の刺激電流によって興奮し相対不応期の状態にある場合より刺激閾が低い。これらの理由でこの際大きい活動電位が現れることになるであろう。このようにして単一興奮体とみなさ

れるENMの場合とは異なる現象が現われ (Fig. 6) ることが理解される. 第1刺激電流として極大刺激を用いる場合にはこのような現象は起ることなく Fig. 5 に示されるような結果となる. 見掛けの上では AP が現われたあとの期間の刺激閾等を観察しているが, 興奮しない, すなわち AP が現れなかった線維も含まれていると考えられるので真の意味において興奮のあと, な

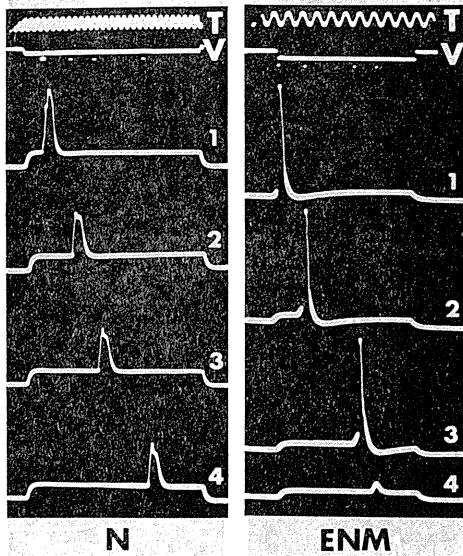


Fig. 7. AP or potential change elicited by the definite (stimulating) current superimposed at a different time point on the depolarizing current (subthreshold).

	In records N	In records ENM
Depolarizing pulse	10mV, 30msec	110mV, 10msec
Superimposed pulse	20mV, 0.5msec	40mV, 0.2msec
Interval from the initiation of the dep. pulse to the test pulse	1. 3msec 2. 7msec 3. 11msec 4. 20msec	0 msec 2 msec 5.5msec 7 msec

いし AP のあとの期間における刺激閾の大きさ等を観察する実験として採用することはできないものである. したがって AP のあとの期間の刺激閾を論ずる場合の例外とみとめる必要はないと考えられる.

### B. 閾下刺激電流と刺激閾

#### 1. 電流持続中の刺激閾の変化; 閾下の刺

激電流持続中に刺激閾の絶対値を定めることは, 持続中の電流とそれに重畳して適用された電流の和を考えなければならないであろう. したがってこれらを正常の場合, すなわち持続電流がない場合の閾と正確に比較することは困難である. そこで, 電流持続中において同一の刺激電流に対して現れる反応の大きさを比較する

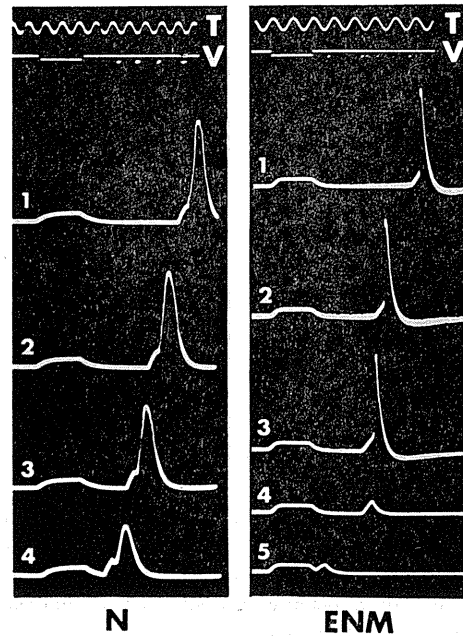


Fig. 8. AP or potential change elicited by the definite (stimulating) current applied at a different interval from the break of the definite cathodic current.

	In records N	In records ENM
Dep. pulse	12mV, 2.5msec	110mV, 2 msec
Test pulse	35mV, 0.3msec	140mV, 0.5msec
Interval from the end of the dep. pulse to the test pulse	1. 5.5msec 2. 4 msec 3. 2.5msec 4. 1.5msec 5. —	5 msec 3 msec 2.4msec 2.2msec 0.5msec

ことによって電流持続期間内の閾の変化を観察した.

閾下刺激電流適用中の種々の時点で, 短期間の適当な強さの電流 (一定) を持続電流に重畳して加えるに当り, 持続電流 (第1の電流) の始めの時点から重畳して加える電流の始めの時

点までの期間を  $t$  とすれば、 $t$  が小さい点からある値の点までは反応は次第に大になり、その後は  $t$  が大になるにしたがって次第に小になり、ある大きさまで小になった後は不変であった (Fig. 7). 持続電流開始の時点からある時点まで反応が次第に増大するのは刺激作用の加重によるものとみなされるが、考えようによってはこれを過常期とみなすこともできるである

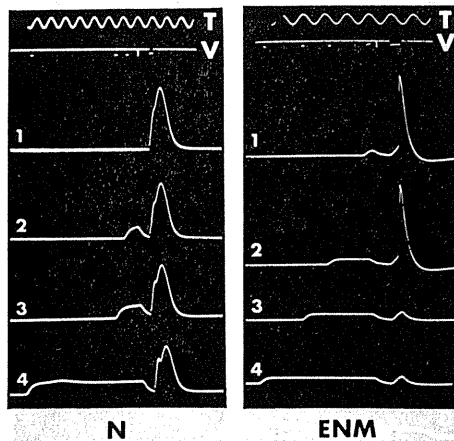


Fig. 9. AP or potential change elicited by the definite (stimulating) current applied at the definite interval from the break of the depolarizing current of a definite intensity but a different duration (subthreshold).

	In records N	In records ENM
Dep. pulse	1. —	0.5msec, 110mV
	2. 1msec, 18mV	2msec, 110mV
	3. 2msec, 18mV	3msec, 110mV
	4. 8msec, 18mV	5msec, 110mV
Test pulse	100mV, 0.3msec	135mV, 0.5msec
Interval from the end of the dep. pulse to the test pulse	0.8msec	0.7msec

う。電流開始後ある時点からは、 $t$  が長くなるにしたがって反応が小になるので相対不応期と同様の期間とみなすことができるが、これは accommodation であるとうことになる。

2. 閾下刺激電流開放後の種々の時点における刺激閾；一定の強さおよび期間の刺激電流を開放した後の種々の時点における刺激閾の大きさは、一度興奮が起った後の刺激閾の状態と

大体同様である。刺激電流開放後の非常に短い期間は刺激閾は低いが、この期間は非常に短く急速に高くなり正常の場合のそれを越えてさらに高くなる。Fig. 8 にみられるごとく一定の電流に対する反応は初め小で次第に正常の大きさに戻る。反応が小さい時期を経て正常の値に戻

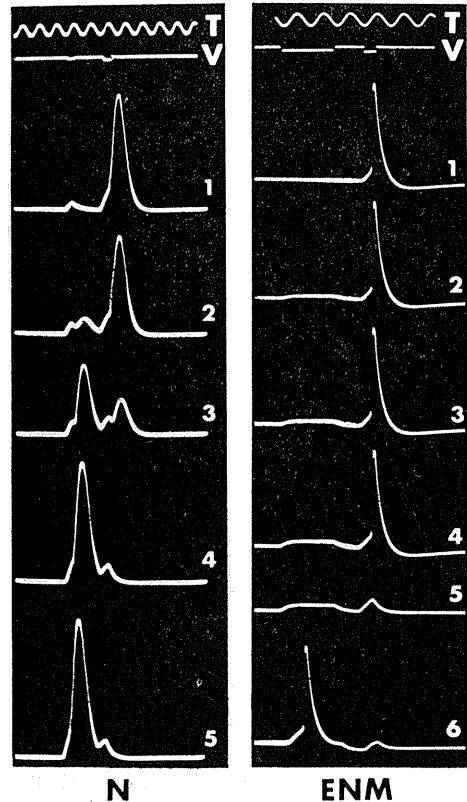


Fig. 10. AP or potential change elicited by the definite (stimulating) current applied at the definite interval from the break of the depolarizing current of a different intensity but the definite duration (subthreshold).

	In records N	In records ENM
Stimulating pulse	1. 15mV, 0.2msec	—
	2. 28mV, 0.2msec	35mV, 2msec
	3. 36mV, 0.2msec	65mV, 2msec
	4. 48mV, 0.2msec	95mV, 2msec
	5. 60mV, 0.2msec	105mV, 2msec
	6. —	130mV, 2msec
Test pulse	40mV, 0.3msec	150mV, 0.5msec
Interval from the end of the stim. pulse to the test pulse	1.7msec	1msec

る経過は興奮後の場合と同様であるが、反応が小さい場合の高さ、正常値に戻るまでの期間は興奮が起った後の場合より軽度である。閾下刺激電流が終った後の短期間刺激閾が低い期間は過常期とみなすべきであるが、刺激作用の加重と考えてもよいであろう。

3. 刺激電流開放後の一定時点における刺激閾と閾下電流の強さの関係；第1に適用する刺激電流（閾下）を、a) 電圧を一定に保ちその期間を変えた場合、b) 期間を一定に保ち電

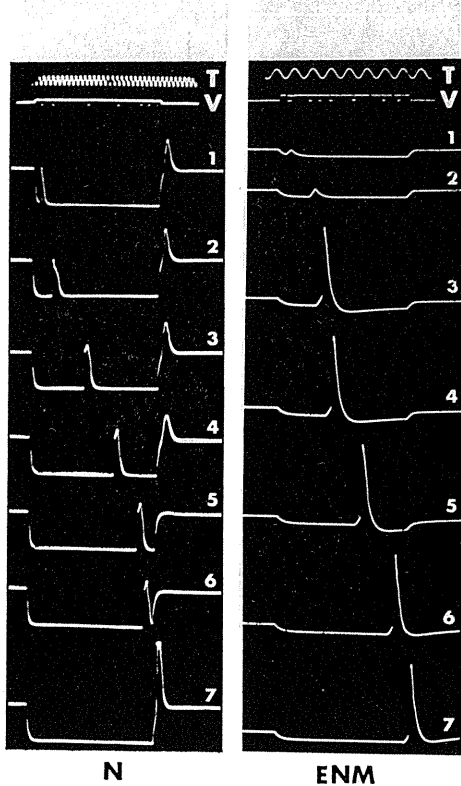


Fig. 11. AP or potential change elicited by the definite (stimulating) current superimposed at a different time point on the anodic current.

	In records N	In records ENM
Hyper. pulse	30mV, 30 msec	150mV, 8 msec
Stim. pulse	35mV, 0.5msec	150mV, 0.3msec
Interval from the initiation of the hyper. pulse to the test pulse	1. 1.5msec 2. 4 msec 3. 11 msec 4. 18 msec 5. 24 msec 6. 26 msec 7. 28 msec	0.5msec 1.7msec 2.0msec 2.3msec 4.5msec 6 msec 7 msec

圧を変えた場合について観察すると、aの場合には電流の期間がより大であるとき、bの場合には電圧がより大である場合において刺激閾の上昇はより著明で反応はより小であった (Fig. 9, 10).

### C. 過分極電流と刺激閾

#### 1. 過分極電流持続中の刺激閾

過分極電流持続中に刺激電流を適用して刺激閾を定めようとするれば、持続電流と適用した電流の代数和について考えなければならないので実験においては過分極電流適用中に適當の強さおよび期間（共に一定）の刺激電流によって現れる反応（活動電位等）の大きさを比較し、過分極電流持続中の刺激閾の変化の状況を推定した。過分極電流の開始後短期間、反応は時間が

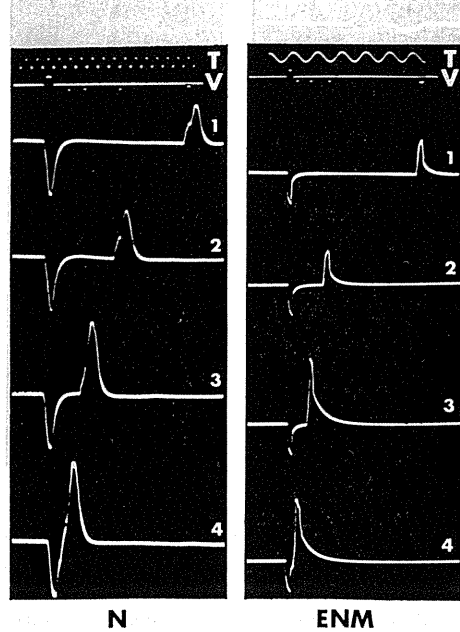


Fig. 12. AP or potential change elicited by the definite (stimulating) current applied at a different interval from the break of the anodic current (subthreshold for the anode break excitation).

	In records N	In records ENM
Hyper. pulse	100mV, 1 msec	140mV, 0.2msec
Dep. test pulse	40mV, 0.5msec	120mV, 0.2msec
Interval from the end of hyper. pulse to the initiation of the test pulse	1. 12 msec 2. 6 msec 3. 3 msec 4. 1.5msec	5 msec 1.5msec 0.7msec 0.2msec

長くなるにしたがって小になるが極小になった後は反応は再び次第に大となり一定の大きさまで達した。その後は過分極電流が強い場合には反応は再び小となり、弱い場合は一定の大きさのまま続いた (Fig. 11).

2. 過分極電流 (閾下) 開放後の刺激閾

過分極電流開放後一定の強さおよび期間の刺激電流を適用した場合、開放直後は反応は小であるが、短時間内に大になり極大に達した後、

時間の経過と共に小さくなりついに正常の場合のそれになった (Fig. 12). 過分極電流が強い場合にこの現象はより著明に観察された。

3. 過分極電流の強さ (電圧, 期間) と電流開放後の一定時点における刺激閾

過分極電流開放後比較的短い一定時点において適用した刺激電流 (閾下) に対する反応は過分極電流の電圧が一定であればその期間が長い

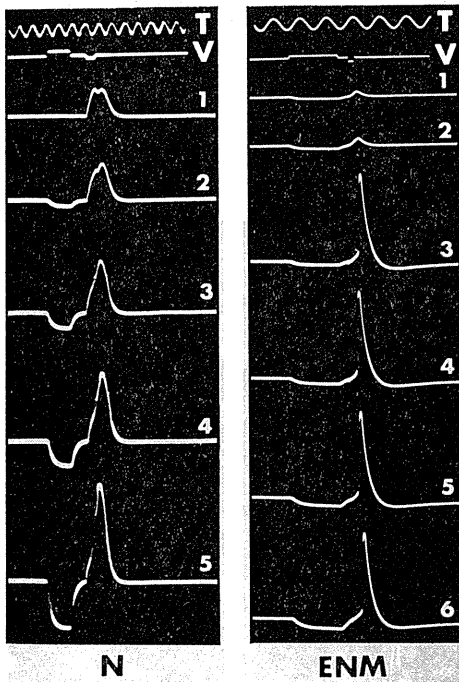


Fig. 13. AP or potential change elicited by the definite (stimulating) current applied at the definite interval from the break of anodic current of a different intensity but the definite duration (subthreshold for the anode break excitation).

	In records N	In records ENM
Hyper. pulse		
1.	—	55mV, 2msec
2.	5mV, 2msec	75mV, 2msec
3.	8mV, 2msec	120mV, 2msec
4.	20mV, 2msec	205mV, 2msec
5.	40mV, 2msec	260mV, 2msec
6.	—	290mV, 2msec
Dep. test pulse	30mV, 0.8msec	75mV, 0.3msec
Interval from the end of the hyper. pulse to the dep. test pulse	1msec	0.4msec

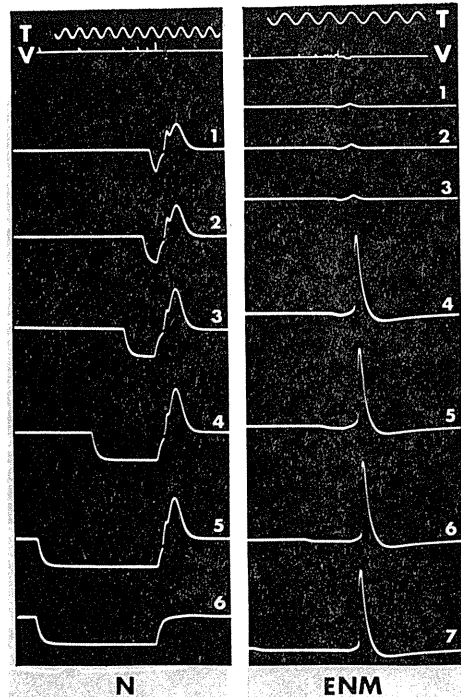


Fig. 14. AP or potential change elicited by the definite (stimulating) current applied at the definite interval from the break of anodic current of the definite intensity but a different duration (subthreshold for the anode break excitation).

	In records N	In records ENM
Hyper. pulse		
1.	45mV, 0.5msec	80mV, 0.1msec
2.	45mV, 1 msec	80mV, 0.2msec
3.	45mV, 2 msec	80mV, 0.3msec
4.	45mV, 5 msec	80mV, 0.5msec
5.	45mV, 8 msec	80mV, 1 msec
6.*	45mV, 8 msec	80mV, 2 msec
7.	—	80mV, 5 msec
Test pulse	100mV, 0.2msec	50mV, 0.3msec
Interval from the end of the hyper. pulse to the test pulse	0.5msec	0.3msec

\* the test pulse was not applied.

ほど、期間が一定であればその電圧が大であるほど反応は大であった (ある大きさまで) (Fig. 13, 14).

D. 活動電位の経過中またはその後に過分極電流を適用した場合の刺激閾

興奮が起ったあとまたは閾下脱分極電流を開放したあと刺激閾が高くなり、過分極電流開放後には刺激閾が低くなることはすでに述べたところであるが、本実験は興奮のあと等において刺激閾が高くなる期間、すなわち相対不応期を過分極電流を適用して消失させる実験である。この場合には三つの直角電流を用いて行なう場合が多いので第1の電流 (刺激電流) をA, 第2の過分極電流をB, 第3の電流 (test pulse) をCとし, A, B, Cの電圧をそれぞれ  $V_A$ ,  $V_B$ ,  $V_C$ , それらの電流の期間をそれぞれ  $t_A$ ,  $t_B$ ,  $t_C$ , AとB, BとCの間程をそれぞれ  $T_{AB}$ ,  $T_{BC}$  で表わすこととした。三つの電流についてこれらの要素のうち一つだけを変え、他の要素は一定値に保った場合に起る現象を観察したが以下においてこれらのうち特に生理学的意義が大であろうと考えられるもの2, 3について述べる。

1. A, C,  $T_{AB}$ ,  $T_{BC}$  を一定値に保ち  $V_B$  ( $t_B$  は一定) を変えた場合

Aによって興奮が起った場合、その直後は相対不応期でその後時間と共に正常に戻る。このような場合にAによって現れた活動電位の下降枝の期間に過分極電流Bを加えればBが終わった後はBが適用されない場合より不応期は速かに消失しBの強さが大であればあるほど不応期の期間は短縮しつつに全く消失、さらに過常期にもなる (Fig. 15)。Bが弱い場合には相対不応期は増大し、Bが弱まるにしたがってBが加えられない場合に近づいた。Bがある程度以上強い場合にはBを開放ただけで開放興奮が現れるようになり、刺激閾がゼロまで低下したと見なすこともできる。 $V_B$ を適當の値にすれば、Bが終わった直後における刺激閾を正常状態のそれに等しくすること、すなわち不応期が全く存在しないような状態にすることも可能であった。

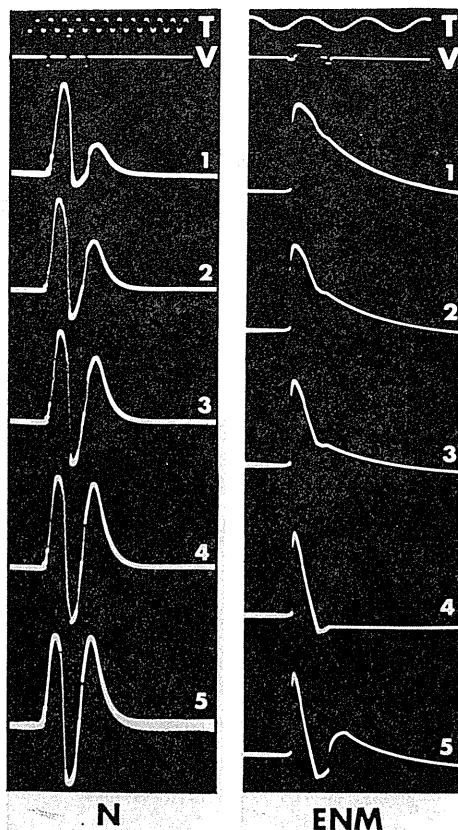


Fig. 15. AP or potential change elicited by the definite anodic current of a different intensity but the definite duration applied at the definite time point on the foregoing action potential, and by the definite (stimulating) current applied at a different interval from the break of the anodic pulse.

	In records N	In records ENM
First stim. pulse	45mV, 0.2msec	15mV, 0.1msec
Hyper. pulse		
1.	70mV, 0.2msec	40mV, 0.5msec
2.	115mV, 0.2msec	40mV, 0.5msec
3.	155mV, 0.2msec	140mV, 0.5msec
4.	220mV, 0.2msec	280mV, 0.5msec
5.	250mV, 0.2msec	320mV, 0.5msec
Second stim. pulse	45mV, 0.2msec	35mV, 0.1msec
Interval between the first and the second pulse	1.2msec	0.05msec
Interval between the second and third pulse	1msec	1msec

2. A, B, C および  $T_{AB}$  を一定にし  $T_{BC}$  を変えた場合

前述の場合にはBの強さを変えたが、この場合はBを一定にし  $T_{BC}$  を変えた。Bが終了後の刺激閾の時間的経過を観察すれば、Bの強さによって三つに区別される。すなわちBが弱い(一定)場合はBが加えられない場合の刺激閾の経過に似た状態であって、Bの直後においても刺激閾は高く(不応期)時間と共に正常の場合のそれに近づいた。Bが強い場合にはBの直後は刺激閾が低く(過常期)、時間と共に正常の値に戻る場合 Fig. 16)と正常の値より刺激閾

が高い期間(不応期)を経た後に正常の値に戻る場合がみられた(Fig. 17)。Bが適當の強さであればBが終了直後から刺激閾はほとんど正常の値でそのまま経過する場合も現れた。

3. B, C,  $T_{AB}$ ,  $T_{BC}$  を一定に保ちAを変化させた場合

Bの後に現れる過常期の状態がBより前のAによって起った反応のためにどのように変るかを観察した。Aによって興奮が起った場合とAが非常に弱い場合すなわちAが加えられなかった場合について比較するに、一般にAが加えら

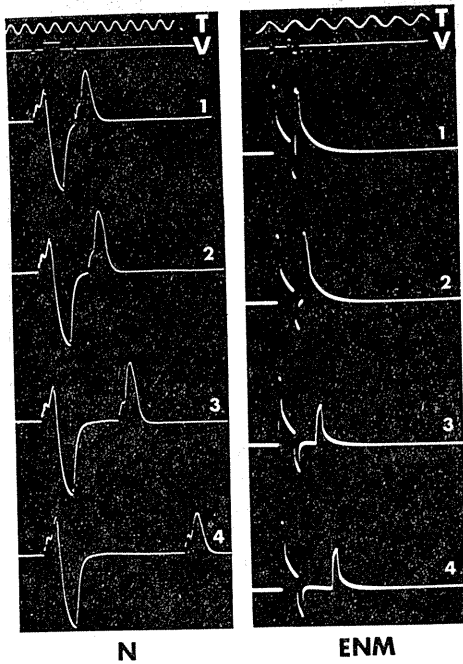


Fig. 16. AP or potential change elicited by the definite anodic current applied at a definite time point on the action potential, and by the definite (stimulating) pulse applied at a different time point after the break of the anodic current.

	In records N	In records ENM
First stim. pulse	45mV, 0.2msec	130mV, 0.2msec
Hyper. pulse	100mV, 1.2msec	140mV, 0.2msec
Second stim. pulse	45mV, 0.2msec	130mV, 0.2msec
Interval from the end of the first stim. pulse to the hyper. pulse	0.8msec	0.5msec
Interval from the end of the hyper. pulse to the second stim. pulse	1. 1 msec 2. 1.8msec 3. 3 msec 4. 7 msec	0.1msec 0.3msec 0.7msec 1.2msec

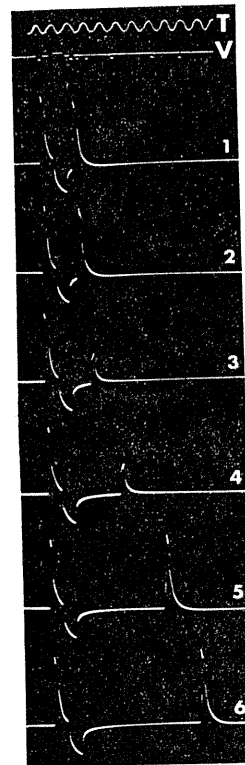


Fig. 17. AP or potential change of ENM elicited by the definite anodic current applied at a definite time point on the action potential, and by the definite (stimulating) pulse applied at a different interval from the break of the anodic current. First stim. pulse : 140 mV, 0.1 msec. Hyper. pulse : 165 mV, 0.8 msec. Second stim. pulse : 140 mV, 0.1 msec. Interval from the end of the first pulse to the initiation of the hyper. pulse : 0.6 msec. Interval from the end of the hyper. pulse to the second stim. pulse : 0.4, 0.6, 1.2, 2.5, 4.5 and 6 msec in 1, 2, 3, 4, 5 and 6 respectively.

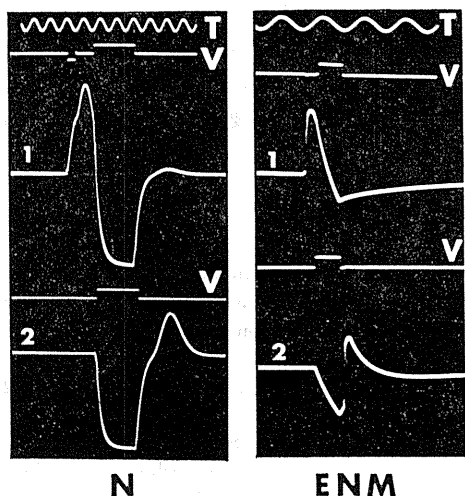


Fig. 18. AP or potential change elicited by the definite anodic pulse applied at a time point on the foregoing action potential and the resting state (1).

	In records N	In records ENM
Dep. pulse	80mV, 0.5msec	20mV, 0.1msec
Hyper. pulse	90mV, 2.5msec	240mV, 0.5msec
Interval between pulses	1msec	0.2msec

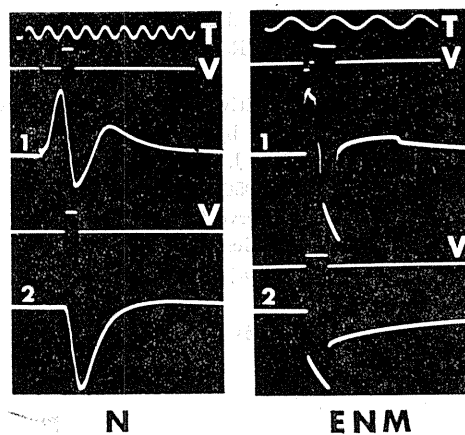


Fig. 19. AP or potential change elicited by the definite anodic current applied at a time point on the foregoing action potential and the resting state (2).

	In records N	In records ENM
Stim. pules	100mV, 0.1msec	140mV, 0.1msec
Hyper. pulse	140mV, 0.5msec	500mV, 0.5msec
Interval between dep. and hyper. pulse	1msec	0.1msec

れなかった場合にはAのために興奮が起った場合に比較してBのあとに現われる過常期は著明で期間も長い. この極端な場合はBが強くBを開放した後, 開放興奮が現われる場合にもAによる興奮が先行すればBによる開放興奮は起らない. しかしAによる活動電位がない場合にはBの開放によって興奮が現れた (Fig. 18). 大山<sup>9)</sup>は Ranvier の絞輪について同様の実験を行ないAによる活動電位が先行しない場合, すなわちBが単独に加えられればBの開放によって興奮は現われないが, Aによる活動電位がBに先行すればBの解放による興奮が現われるという上述とは逆の結果を報告している. 著者等の実験においても実験条件によってまれに大山の報告と同様の結果を観察しえた (Fig. 19).  $T_{AB}$  を種々異なる値にして実験しそのような結果が起る理由を確かめることができた. これについては別の機会に述べる.

#### IV. 考 按

実験成績に示したごとく過常期, 相対不応期等の発現する条件およびそれらの期間において一定の刺激電流に対する AP の大きさの変化の状況, すなわち刺激閾の変化は坐骨神経および ENM において同様であった (Fig. 6 の場合は既述).

その他, 松本, 北村等によって神経線維に関する既知の電氣的性質および電気現象について行なった実験の範囲内 (20数種類の現象) では神経 (線維) および ENM の両者において現象の発現の条件, および電氣的経過等は両者において大体同様であることが明らかにされている. これらのことを前提とすれば神経線維および ENM において過常期, 相対不応期等に関係する電氣的回路, ないしはその等価回路は高い確率をもって同様であろうとの推定が可能になる. 神経線維それ自体を材料として相対不応期等が起る機序の解明は困難であるとすれば, ENM において知りえたこれらの現象の機序を直ちに神経線維のそれに置きかえることができるとはいえないまでも, これによって重要な

示唆がえられることは確かであろう。しかし EMN において過常期、相対不応期 (に相当する現象) が起る機序の詳細については、刺激閾の変化である適応の現象の機序と共に改めて報告する予定である。

## V. 総 括

食用ガエルの坐骨神経および電氣的神経模型を材料として脱分極、過分極電流によって起った活動電位その他の電氣的变化に関連して発現する過常期、不応期等の現れる状況を観察し次のごとき結果をえた。

1. 脱分極電流の閉鎖、過分極電流の開放によって起る活動電位については plateau の期間は絶対不応期、下降枝およびその後のある期間は相対不応期であった。

2. 閾下の脱分極電流持続中および開放後においては、電流開始と共に過常期に入り刺激閾は極小に達し、その後、閾は増大するが電流開放直後急速に増大して正常の値を経てさらに増大し (相対不応期) 極大に達して再び正常値に戻った。

3. 過分極電流適用の場合は適用直後から閾は急速に上昇するが、極大値を経て後減少に向い極小値をとった後再び次第に上昇し、電流開放と共に急速に低下し (過常期) その後正常状態に戻った。

4. 活動電位の下降枝とその後の期間に現われる相対不応期は、その期間中、または前に過分極電流を適用すれば電流の強さが大であればあるほど相対不応期は速かに経過し、または消失し逆に過常期ともなった。

5. 1, 2, 3 および 4 の実験成績は坐骨神経と電氣的神経模型の両者において定性的には全く同様に現われた。

著者等は 1 ~ 5 に述べた実験結果に基づいて次の二つの結論を導いた。1) 神経線維および ENM において過常期、相対不応期等の発現に関与する電氣的回路は両者において大体同様であろうと推定される。2) 過常期、相対不応期等が起る機序を神経線維を材料として明かにし

難いとすれば ENM においてこれらの現象が起る機序を解明すればこれを直ちに神経線維のそれらの現象が起る機序に置きかえることはできないまでも少くとも重要な示唆がえられるであろう。

## 文 献

- 1) Eccles, J. C. (1953) The neurophysiological basis of mind. Refractory 54p, Accommod. 55p. Oxford, at the clarendon press.
- 2) Hodgkin, A. L. (1951) The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. *Biol. Rev.* **26**, 339
- 3) Kobayashi, N. (1956) Studies on the refractory period by means of electrochemical model of excitation. *Gunma J. Med. Sci.* **5**, 106
- 4) Kobayashi, N., Kobayashi, E. and Matuoka, T. (1957) On the recovering agent in immersing solution in electrochemical model of excitation. *Gunma J. Med. Sci.* **7**, 636
- 5) 真島英信 (1967) 生理学 文光堂, 東京
- 6) 松本政雄 (1959) 電氣化学的興奮模型による刺激, 興奮および回復機序の研究. 興奮伝導の諸問題 **42**
- 7) 松本政雄, 北村奉正, 半場道子 (1973) 神経線維の等価回路と電氣的神経模型. *日本生理誌* **35**, 639
- 8) 本川弘一 (1962) 生理学 南山堂, 東京
- 9) Ooyama, H. and Wright, E. B. (1959) Effect of anodal and cathodal pulses applied during action potential at a single Ranvier node. *Am. J. Physiol.* **197**, 1247
- 10) Sato, M. (1952) Repetitive responses of the nerve fiber as determined by recovery process and accommodation. *Jap. J. Physiol.* **2**, 277
- 11) Spyropoulos, C. S. (1950) Changes in the electric response of single nerve fibers following repetitive stimulation. *J. Gen. Physiol.* **40**, 19
- 12) 鈴木忠男 (1957) 心筋の不応期に関する研究. *電氣生理学研究* **16**, 89
- 13) 武重祐彦 (1956) 骨格筋の回復曲線について. *電氣生理学研究* **10**, 79
- 14) Tasaki, I. (1949) The excitatory and recovery processes in the nerve fibre as modified by temperature changes. *Biochim. Biophys. Acta* **3**, 498
- 15) Tasaki, I. (1956) Initiation and abolition of the action potential of the single node of Ranvier. *J. Gen. Physiol.* **39**, 377
- 16) Tasaki, I. and Hagiwara, S. (1957) Demonstration of two stable potential states in the squid giant axon under tetraethylammonium chloride. *J. Gen. Physiol.* **40**, 859
- 17) 山本邦清 (1956) 無髓神経の回復過程に関する研究. *電氣生理学研究* **9**, 79

## Sweating in the cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*) exposed to ambient temperature of 40°C

Hiromi TOKURA and Kohachiro SUGIYAMA\*

*Primate Research Institute, Kyoto University, Inuyama, and Department  
of Physiology, Nagoya City University Medical School, Nagoya\*, Japan*

Sweating is the effective avenue of heat loss in man at hot ambient temperature. In the Japanese macaque, the most northerly species of monkey in the world, neither panting nor effective sweating occurs at heat exposure of 38°C<sup>3</sup>. It is interesting to see whether sweating plays an important role in regulating the body temperature of the cynomolgus macaque, the tropical inhabitant in southeast Asia, at hot ambient temperature. In the present experiments, the sweating responses of the palm and chest were measured in the cynomolgus macaque exposed to ambient temperature of 40°C.

The subjects were three adult male cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) (M-1, M-2, and M-3) weighing 4 ~ 7 kg and the experiments were performed between July and October, 1972. The monkeys were housed for about 1 year prior to the experiment in an animal room at 23±3°C. They were trained to sit quietly in primate-chairs. Cutaneous water loss was measured by CaCl<sub>2</sub> method<sup>2</sup>). One plexiglass capsule (13 mm in diameter) was fixed on the palm and another one (20 mm in diameter) on the chest with alpha cyanoacrylate. Compressed, dried air currents were passed through the capsules. The rate of the air current was 1 L/min. These currents were charged by moisture from the skin, and led through vinyl-tubes into small U-tubes containing calcium chloride. Thus, water from the skin was absorbed to calcium chloride and the weight of the small U-tube was measured every 10 min. The measurements began 3 hrs after the animal

was transferred to a microclimate chamber at 20°C. Then the ambient temperature ( $T_a$ ) was linearly raised to 40°C over one hour, simultaneous with the measurements of sweat production. Rectal temperature ( $T_{re}$ ) and skin temperature on the palm ( $T_{palm}$ ) and chest ( $T_{chest}$ ) were also measured using copper-constantan thermocouples every minute.

At  $T_a=20^\circ\text{C}$ , the  $T_{re}$  of the three monkeys was between 35.8° and 37.6°C. While  $T_a$  was raised from 20° to 40°C over one hour,  $T_{re}$  remained at the 20°C exposure level for the first 10~30 min before  $T_a$  reached 31~34°C. Then, as  $T_a$  was raised further, thermal equilibrium was lost and  $T_{re}$  began to rise linearly until the end of the experiments. At  $T_a=20^\circ\text{C}$ , cutaneous evaporation was between 0 ~ 26.7 mg/20 cm<sup>2</sup>/10 min on the palm and 0 ~ 9.6 mg/20 cm<sup>2</sup>/10 min on the chest. As  $T_a$  was elevated to 40°C, the  $S_{palm}$  gradually increased and reached to a plateau at the range of 76.4 to 172.6 mg/20 cm<sup>2</sup>/10 min. The increase of  $S_{chest}$ , on the other hand, was very low, i. e. between 19.7 and 36.9 mg/20 cm<sup>2</sup>/10 min. The panting was not observed. The sweat response in M-1 is shown in Fig. 1.

The relationship between  $T_{palm}$  and  $S_{palm}$ , and also between  $T_{chest}$  and  $S_{chest}$  in each animal is shown in Fig. 2(A) and 2(B), respectively. A good correlation was found between  $T_{palm}$  and  $S_{palm}$ , and also between  $T_{chest}$  and  $S_{chest}$ . These findings might indicate that the sweating responses are derived mainly from an increase of  $T_{palm}$  and  $T_{chest}$ . To further clarify these results, we did the following experiment. The monkey was held in the monkey-chair at  $T_a=17^\circ\text{C}$ . The hair of 20 square centimeters was locally removed from the left thigh and the chest. For visualization of sweat, the iodine-starch

登倉尋実：京都大学霊長類研究所

\* 杉山幸八郎：名古屋市立大学医学部第一生理学教室

[Received for publication December, 12, 1974]

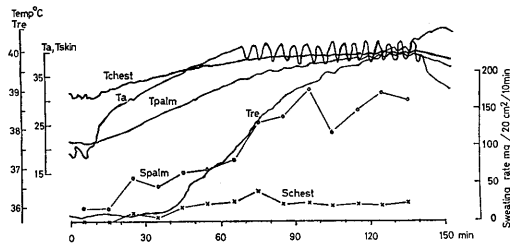


Fig. 1.  $S_{palm}$ ,  $S_{chest}$ ,  $T_{re}$ ,  $T_{palm}$  and  $T_{chest}$  of M-1 exposed to  $40^{\circ}\text{C}$   $T_a$ .

method of Wada and Takagaki was used. The radiant heat from a 100 w electric bulb was held about 3 cm above the locally shaved skin of the thigh. The skin temperature of radiated area was between 35 and  $40^{\circ}\text{C}$ . Several sweat droplets appeared in the thigh after about 3 min of exposure, but no sweat droplet was found on the chest. Thus, the sweating response appeared only in the thermally stimulated skin area and did not occurred in the chest. The heat loss center, therefore, did not seem to act positively in producing the sweat. This fact supports our contention that the sweating discharge is mainly due to the increase of skin temperature. This phenomenon has been reported in dogs already<sup>1)</sup>.

In sacred baboon (*Papio hamadryas*), and stump-tailed macaque (*Macaca speciosa*), thermal balance can be maintained mainly by cutaneous evaporative cooling at hot ambient temperature<sup>4)5)</sup>. But, the cynomolgus macaque also did not pant, produce the large amount of sweat enough to maintain  $T_{re}$  constant at  $T_a=40^{\circ}\text{C}$ . This species, though tropical animal, lives in the forest, ambient temperature of which may not be so high. Therefore a powerful heat loss mechanism in this species might not be needed in his history of evolution.

The authors thank Dr. T. Nakayama for much valuable advice throughout this work and Dr. K. Hotta for his critical reading of this manuscript.

This study was supported in part by the grant for Joint Research Program of Primate Research Institute, Kyoto University.

**key words** : thermal sweating, cynomolgus macaque.

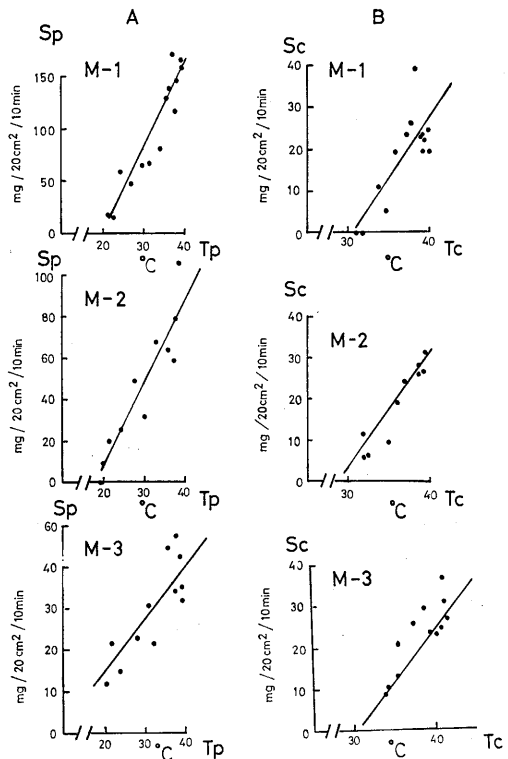


Fig. 2. Relationship between the skin temperature and the sweating rates. (A) Relationship between  $T_{palm}$  and  $S_{palm}$ . Correlation coefficient and regression equation :  $r=0.94$ ,  $Y=8.0X-160.0$  for M-1 ;  $r=0.99$ ,  $Y=4.0X-72.5$  for M-2 ;  $r=0.80$ ,  $Y=1.3X-11.5$  for M-3, respectively. (B) Relationship between  $T_{chest}$  and  $S_{chest}$ . Correlation coefficient and regression equation  $r=0.86$ ,  $Y=3.0X-92.0$  for M-1 ;  $r=0.90$ ,  $Y=2.8X-80.4$  for M-2 ;  $r=0.85$ ,  $Y=2.5X-76.8$  for M-3, respectively.

## References

- 1) Aoki, T. & Wada, M. (1951) *Science* **114**, 123-124
- 2) Kuno, Y. (1956) *Human Perspiration*, Charles C. Thomas, Springfield, 370-376
- 3) Nakayama, T., Hori, T., Nagasaka, T., Tokura, H. & Tadaki, E. (1971) *J. Appl. Physiol.* **31**, 332-337
- 4) Newman, L. M., Cummings, E. G., Miller, J. L. & Wright, H. (1970) *Physiologist* **13**, 271
- 5) Robertschaw, D., Taylor, C. R. & Mazzia, L. M. (1973) *Am. J. Physiol.* **224**, 678-681

## [書評]

**S. L. Palay and V. Chan-Palay 著**  
**Cerebellar Cortex : cytology and organization**  
 (348頁, 1974, Springer-Verlag, 18,434円 Blackwell 扱)

東海大学医学部第一生理学教室  
 高比良英輔

Purkinje が小脳皮質に特異な細胞を記載してから一世紀半, Golgi がそのユニークな短軸索ニューロンの像を描いてから一世紀たつ。光学顕微鏡による小脳皮質の包括的な記載は, Ramon y Cajal によってなされ, それは脳構築のモデルとして, 医学生教材となり, また生理学的研究への刺激となった。しかし Cajal の皮質回路図には, 時代の限界が数多く含まれており, また彼のあまりにも見事な描図は, 自然科学的証明としての力を減殺するような一面をもっていた。たとえば, Purkinje 細胞の recurrent collateral について, また Cellules étoilées とはいくつのサブクラスから成り, それらへの入力はどうなっているのかについて, 多くの不明確な点のあったことは否めない。さらに, 彼のバスケットおよび登上線維の描図を前にして, そのシナプス部は果してどこにあるのかと困惑を覚えた者も少なくないであろう。

Eccles 教授一派の電気生理学的研究は, 1960年代の後期に, 時代が準備していた小脳の電子顕微鏡学的研究を爆発させた。すでに50年代からこの領域の開拓者であった S. L. Palay 教授が V. Chan-Palay という協力者をえて, なしとげた精力的探

求の成果が本書である。

新しい技術の積極的な応用 (その方法は終章に簡潔にのべられている), 原形質内容とその構成様式によって終末を同定する方法 (これは Dale の原則の形態学版ともいえる), 光学顕微鏡像と電子顕微鏡像の組合せによる解析などにより, 本書は, 小脳の構築像を, Cajal の点から確実に前進させた。Purkinje-recurrent collateral の終末部位, Lugaro 細胞を独立した細胞として扱ったこと, バスケットの筆尖 (pinceau) 構造の包括的な記載, 登上線維の二重性とその顆粒層分枝, グリア被覆のニューロン選択性など, 多くの重要な新知見は, 古典についての充分な咀嚼と批判の上に築かれている。この書が将来の生理学研究に対して豊富な情報と示唆を与えることは疑いないであろう。著者らは, 現在の生理学的通説の大綱を受け入れながら, 随所に懐疑の念をもらしており, しばしば微笑をさそうところがある。図譜, 本文の印刷, 造本等は極めてすぐれており, 本書を繙くとき, 古くからの〈構造と機能〉の問題が, 小脳皮質にかくも鋭く突出していることについて, 人を深い思いに沈ませる。

## [編集後記]

前巻の特集号の学会50年誌にのった座談会を, 誠に興味深く拝読した。多くの会員の方がたも同様であったと思われる。ところが, その最後の, 外国語論文と日本語論文のことについての, 老先生の御意見がどうも気になって仕方がない。客の来訪をうければ, 応接間に通す, そこは日常はつかわない特別な部屋としておく。居間と応接間の

区別のような, そんな区別を, 日本人研究者による日本語論文と外国語論文の区別に, 考えておられるように思われるのである。現在のわれわれには, 実のところ, 居間と応接間の区別など出来ない, 居間に来客を招じ入れざるをえないのである。自然科学の研究の状況も, まさにその通りではないであろうか。日本は特殊な国だからとか, 日本語は特殊だからとっては通用しない。ぶっつけ本番で, 世界の学会に自分の研究成果を発表

しなければならぬ状況に、われわれはすでにおかれていますと思われる。はじめから、外国語で論文を書く、それが出来ないような研究には手をつ

けてはいけない、というのは暴論であるだろうか。  
(高垣玄吉郎)

[会報]

日本生理学会会費お払込みのお願い

昭和49年度会費4,000円を何卒お払込み頂きたくお願い致します。前年度会費(昭和48年度4,000円)未納の方は至急お払込み下さい(振替用紙は36巻1号に挿入してあります)。

なお、教室、研究所ではまとめてお払込み頂くと幸いに存じます。お払込みは必ず振替または現金書留でお願いします(普通郵便に現金または小為替等の同封は紛失の例があります)。

〒113 東京都文京区本駒込 2-28-21  
東洋文庫内

日本生理学会事務局

振替口座東京 86430

電話 (03) 945-2840

編集委員

塚田 裕三(幹事)	入内島 十郎	酒井 敏夫
高垣 玄吉郎	戸塚 武彦	鳥居 鎮夫
村田 計一	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)	

西独 GÖTTINGEN GMBH.

## 超微量 マイクロシリンジ

最高の精度と再元性を  
保証します。

挿入ピストンは二重式でラージ型ピストンの中に、さらに微量用のスモールピストンが組込まれ、それぞれの注入調節はマイクロメーターで行われます。

スリ合せ部はステンレスとテフロンで作られています。

特に毒・薬物等の微量注入には最適です。

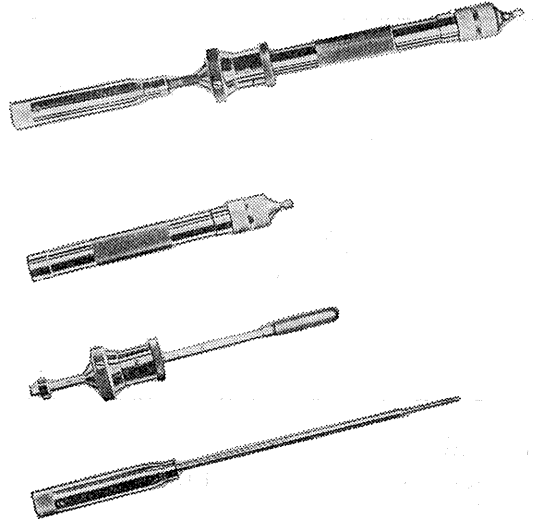
### Large Plunger

Diameter ..... 5.046 mm  
Length of Stroke ..... 50 mm  
Volume ..... 1000 mm<sup>3</sup>  
Accuracy ..... 0.2 mm<sup>3</sup>

### Small Plunger

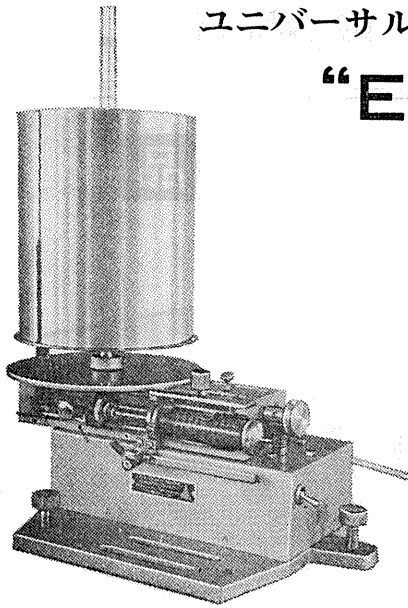
..... 1.13 mm  
..... 15 mm  
..... 15 mm<sup>3</sup>  
..... 0.01 mm<sup>3</sup>

Total Volume: 1015 mm<sup>3</sup>



西独 KETTER INC.

## ユニバーサル 電動式キモグラフィオン “ELKYMO”



型録進呈

インフィージョン装置はキモグラフの  
指数機構に合わせて製作されています。

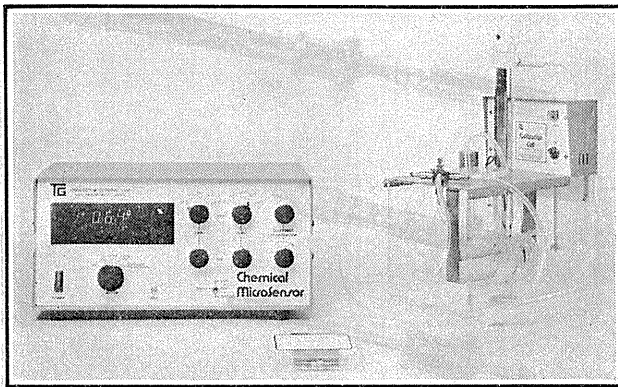
Pr. Dr. H. Druckrey 考案

- 注入装置とキモグラフは同時にスイッチを入れられます。
- 従来のものより多種類の速度のセットが出来、いかなる速度でも記録が出来ます。
- 注入装置とキモグラフは、それぞれ切り離しても使用できるので、その応用範囲は、さらに広がります。
- 他の速度への転換は、作動中でも出来、指数的に増減することが出来ます。
- 注入装置は14種の速度があり、1:2の割合で作動できるので、ピストンは34秒で10mm~76時間で10mmまで進ませられます。この注入は指示度に従ってシリンジが完全に空になった後でも自動的に止められます。

旭光物産株式会社 本社 東京都千代田区神田司町2の2  
営業所 東京都文京区本郷4の3の1 TEL 814-1635

# Chemical Microsensor MODEL 1210

新発売



PO<sub>2</sub>, PH<sub>2</sub>

測定に最適!

## 《特徴》

- 細胞レベルでのPO<sub>2</sub>およびPH<sub>2</sub>測定に最適。
- 測定値は読みやすいデジタル表示。
- 濃度単位はパーセントとmmHgで表示、電極分極はボルトで表示。
- アナログおよびBCD出力端子付。

## 《概要》

本装置は、生物組織中の溶存酸素を測定したいという研究者の強い要望によって生まれたものです。多くの研究室では組織における低酸素症を起こす心臓病の研究がなされています。例えば冠状動脈を閉塞することにより擬似的に血栓症を引き起こし本装置で酸素圧変化をモニターできます。

# Neuro Graph

# MODEL N-3

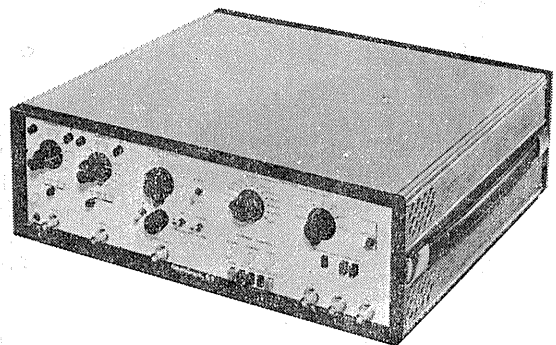
## 波形記憶装置

新製品

ニューログラフN-3は医学、生理学研究における高速の生体現象を的確に捉え、記憶するための全く新しい波形記憶装置です。

## 《特徴》

- 高速の生体現象を記録および記憶させます。
- 記憶されたデータをチャートレコーダーで描ける様にゆっくり読出します。
- ストアレンジオシロスコープや写真撮影の必要はありません。



日本総代理店

本社 東京都中央区日本橋室町4-3 〒103 ☎(03) 241-2444(代表)

室町機械株式会社

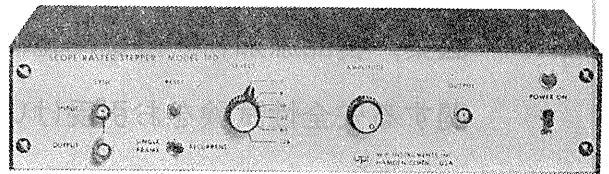
支店 大阪市東区道修町3-17(高原ビル2階) 〒541 ☎(06) 227-0182

# SCOPE RASTER/STEPPER

## MODEL 140

### 《新製品》

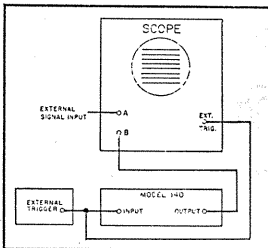
- より広範囲なデータ表示装置
- オシロスコープの機能を拡大



#### 《概要》

140型スコープラスター/ステッパーは簡単で経済的なD-Aコンバーターであり、データをより広範囲に表示するために設計されています。本装置はオシロスコープのトレース（掃引幅）を通常の長さの128倍まで効果的に伸ばします。

#### 主な使用例

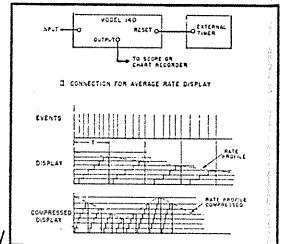


1. Raster Mode

Fig. 1

2. Dotted Display

Fig. 4



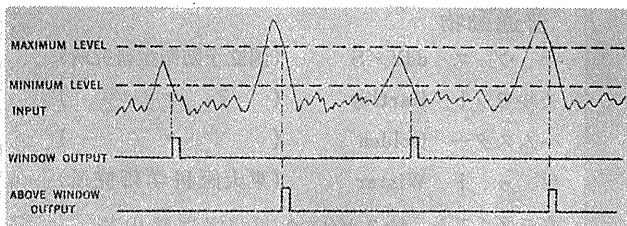
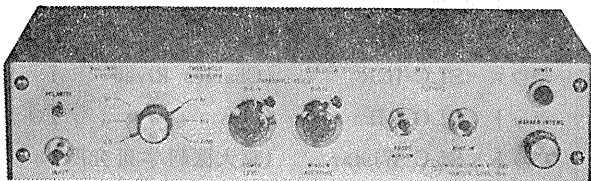
3. Contour Display

4. Average Rate Display

# WINDOW DISCRIMINATOR

## MODEL 120

### 《新発売》



#### 《概要》

本装置は、増幅度“ウインド”のレベルを設定することにより、入力波形の上端部がこの設定レベル内に入ると本体の出力部にパルスが発生する様に設計されています。設定レベルラインはオシロスコープに表示されます。

日本総代理店

本社 東京都中央区日本橋室町4-3 〒103 ☎(03) 241-2444(代表)

室町機械株式会社

支店 大阪市東区道修町3-17(高原ビル2階) 〒541 ☎(06) 227-0182

# 静岡協が新しい会社を設立……

医薬、食品添加物、農薬、化粧品、化学物質等の諸物質に関する安全性試験をお引受けいたします。

生産から試験終了まで、一貫してSPF施設で実施

## 〈 受 託 項 目 〉

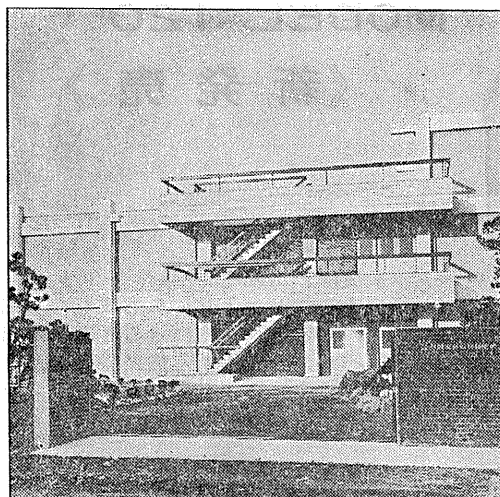
- ◇ 一般毒性試験
- ◇ 催奇性試験
- ◇ 発癌性試験
- ◇ 世代試験
- ◇ 刺激性試験
- ◇ 組織標本の作成並びに検査

## 株式会社 生物科学技術研究所

〒430 静岡県浜松市葵町95番地の10 TEL(0534)36-1957



## —Barrier System (SPF) 実験動物の生産販売—



### SPF 動物

マウス	SLC-ddY	(国立予防衛生研究所)
マウス	SLC-ICR	(Charles River)
ラット	SLC-SD	( )
ラット	SLC-Wistar	(東大医科学研究所)
ラット	SLC-Fischer	( )

### 普通動物

マウス	ddY/S	(国立予防衛生研究所)
モルモット	Hartley	( )
ハムスター	Golden	( )
ラット	Wistar	(東大医科学研究所)

カンクイザル アカゲザル 輸入検疫 9 週間経過後出荷

## 静岡県実験動物農業協同組合

〒435 静岡県浜松市小池町1616番地 TEL(0534)63-0865(代)

New 13th Edition

医 科 生 理 学

# Medical PHYSIOLOGY,

in 2 Vols.

Edited by

V. B. Mountcastle

1974, 1,807 pp.  
with 2,133 illustrations

¥10,910.— 入 荷

第13版は、全面的に改訂がなされ、事実上、新刊書ともいえるものとなり、臨床医学の基礎知識を与えるために、最近の進歩を豊富に取り入れた人体の生理学書である。

第1巻は、神経生理学を完全に網羅しており、1冊の単行本としても利用できる。

第2巻は、循環、腎臓と体液、消化器、代謝、呼吸、内分泌腺について述べてあり、各章がおおの専門書といえるだけの十分な研究がなされている。

以上、生理学の全貌を完全に把握したこの書を、臨床医、医学研究者、学生諸氏にご推選します。

**CONTENTS** VOLUME I • CELLULAR PHYSIOLOGY • Principles of cell homeostasis • Excitation and conduction in nerve fibers • Mechanism of muscle contraction and its energetics • Vertebrate smooth muscle • INTERACTIONS BETWEEN EXCITABLE TISSUES • Neuromuscular transmission • Synaptic transmission • GENERAL PHYSIOLOGY OF THE FOREBRAIN • Structural organization and general physiology of thalamotelencephalic systems • Sleep, wakefulness and the conscious state; intrinsic regulatory mechanisms of the brain • CENTRAL NERVOUS MECHANISMS IN SENSATION • Physiology of sensory receptors; introduction to sensory processes • Neural mechanisms in somesthesia • Pain and temperature sensibilities • The auditory periphery • Central neural mechanisms in hearing • The eye • Physiology of the retina • Central neural mechanisms in vision • The chemical senses: gustation and olfaction • The study of sensation in physiology: psychophysic and neurophysiologic correlations • Higher functions of the nervous system • NEURAL CONTROL OF MOVEMENT AND POSTURE • Organization of the motor systems—a preview • Feedback control of muscle—introductory concepts • Peripheral mechanisms involved in the control of muscle • Organization of the spinal cord • Spinal reflexes and the control of movement • Feedback control of muscle: a synthesis of the peripheral mechanisms • Motor functions of the brain stem and basal ganglia • Role of the vestibular system in posture and movement • The cerebellum • Motor functions of the cerebral cortex • THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM: THE HYPOTHALAMUS AND THE INTEGRATION OF BODY FUNCTION • The autonomic nervous system and its role in controlling visceral activities • The hypothalamus and control of integrative processes • VOLUME II • THE CIRCULATION • The cardiovascular system • The heart • The electrocardiogram • The heart as a pump • Principles of hemodynamics • Normal circulatory function • Autonomic and peripheral mechanisms of control • The cardiovascular control system • Capillaries and lymphatics • Regional circulations • Pulmonary circulation • Blood volume • The blood • Hemostasis • KIDNEY AND BODY FLUIDS • Volume and composition of the body fluids • Mechanisms of urine formation • Urine formation in the diseased kidney • The cerebro-spinal fluid • PHYSIOLOGY OF THE DIGESTIVE SYSTEM • The absorptive function of the alimentary canal • The secretory function of the alimentary canal • The motility of the alimentary canal • METABOLISM • Energy exchange • Energy balance and food intake • Physiology of muscular exercise • Body temperature regulation • Regulation and control in physiology • RESPIRATION • Mechanical and physical aspects of respiration • The atmosphere and gas exchange with the lungs and blood • Transport of oxygen and carbon dioxide by the blood • Neurogenic factors in control of respiration • Chemical control of respiration at rest • Interactions of physical, chemical, and nervous factors in respiratory control • Abnormal types of respiration • Anoxia, altitude and acclimatization • Effects of excessive pressures of oxygen, nitrogen, carbon dioxide, and carbon monoxide: implications in aerospace; undersea, and industrial environments • ENDOCRINE GLANDS • Introduction to endocrinology • Pituitary gland • The thyroid • Parathyroid hormone, calcitonin and Vitamin D • Adrenal cortex • Reproduction • Pancreas and regulation of metabolism

The C. V. Mosby Co. St. Louis

本店 113 東京都文京区本郷3丁目42  
振替東京149 電話(811)7234(代表)

南江堂

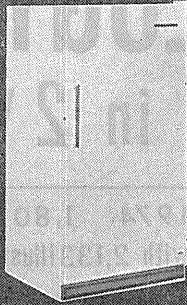
支店 604 京都市中京区寺町通御池南  
振替京都5050 電話(221)7841(代表)



# 世界のGM **ディープフリーザー** Frigidaire

使い易き設置場所を取らないUprightを!

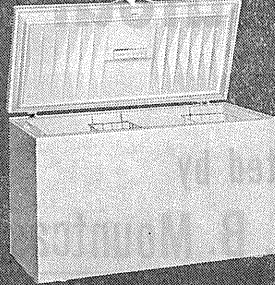
NO-Frost



写真モデル UFP-18 561 /  
384 / ~ 633 /  
6機種

半永久保存はChestタイプ型で!

超一流品を貴方の研究室へ



写真モデル CF-20 609 /  
309 / ~ 759 /  
4機種



-15 ~ -25°C調整可能

## (特徴)

コンプレッサー……独特のロータリーコンプレッサーで回転式で運転音は殆んどありません。

断熱材……フリジフォームが使用され薄型壁構造の為内容積が大きく設置場所を広く取りません。

ノーフロスト……GM社独特の技術によりモデルUFP-15、UFP-18は冷気循環方式で霜なし全自動です。

G.Mフリーザー、大型冷凍冷蔵庫、フォーマサイエンス各種恒温槽、-85°C超低温槽、プレハブコールドルーム、プラズマフリーザー  
492BF

## 日本フリーザー株式会社

東京都文京区湯島3丁目19番4号 〒113  
TEL 東京(03)831-7643・833-1331(代)内線296

# 医薬化

## 広告代理店

専門取扱  
医学・薬学・化学  
専門雑誌・業界新聞

## 本誌広告取扱

合資会社 **日本医学広告社**  
東京都千代田区神田駿河台2-9  
日本医事新報ビル  
電話 (03) 292-6961 (代表)



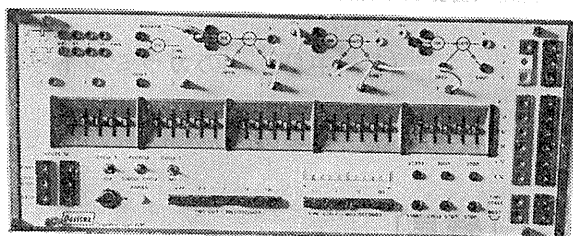
# Digitimer

Research Instrumentation

ソリッドステート装置を用いデジタル方式を採用  
画期的な最高精度と使い易さを誇る現代生理学研究に不可欠な刺激装置

〔特徴〕

- 時間は 5 桁の数値を 10 マイクロ秒のステップで変化可能、リセットも正確。
- ゲート回路の使用で正確な持続時間と数のパルスを作れる。
- 本体一台で独立に 4 チャンネルのパルスを発生可能。
- アイソレーター使用によりパルス幅を 50 マイクロ秒から 1 秒まで可変。
- 出力インピーダンスは（出力電圧のどのレンジでも）1300 オーム以下である。そして、短絡に対しては自動的に保護される。
- 実際の神経刺激に際しては出力電圧はダイアルメモリーと一致する。



Digitimer 3290

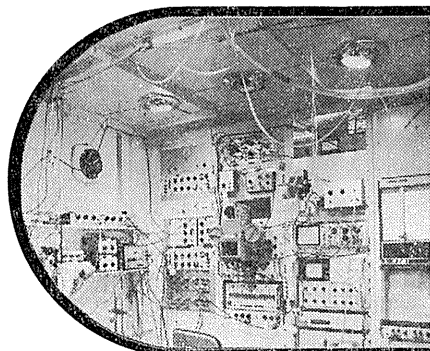


Gated Pulse Generator 2521



Isolated Stimulator 2533

☆その他、電気生理学装置としてモジュラー形式による Neurolog システムも別に用意されております。カタログ、一覧表などを御希望の方は御一報下さい。



取扱製品

- |                                   |                             |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| Digitimer 3290                    | Counter Timer 3251          |
| Digitimer 4030                    |                             |
| Isolated Stimulator 2533          | その他                         |
| Dual High Voltage Stimulator 3072 | Neurolog System Instruments |
| Gated Pulse Generator 2521        |                             |
| Relay Unit                        |                             |
| Logic Unit 3080                   |                             |
| Photic Stimulator 3182            |                             |

英国ディジタイマー社(旧名デバイス社)日本総代理店

ドッドウェル エンド コムパニーリミテッド輸入物資部

東京都千代田区丸の内1-4-2(東銀ビル)・03(211)2141内線424or429

動物実験に理想的な非動性を得られる

非脱分極性筋弛緩剤

## 2%ガラミン注射液“テイサン”

(1 ml中20 mgのガラミントリエチオダイドを含有)

### 〔特長〕

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

〔包装〕 20ml (400mg)バイアル  
5ml (100mg)10管

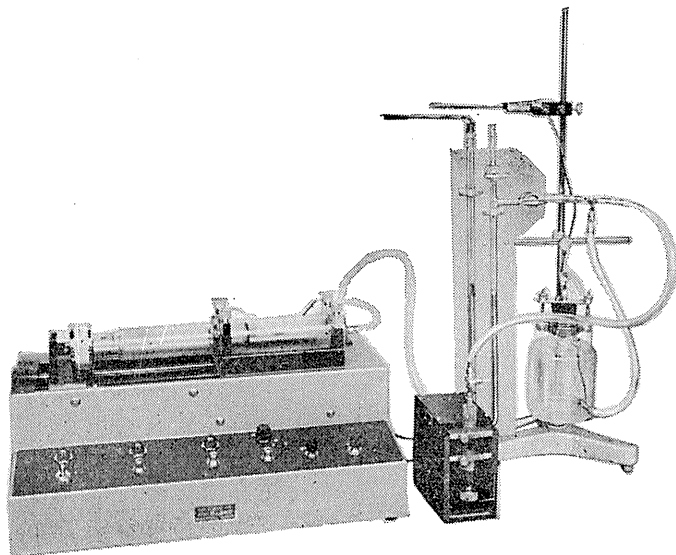
販売  
長瀬産業株式会社

製造  
帝国化学産業株式会社  
大阪市西区北堀江上通1-10(大阪中央ビル)

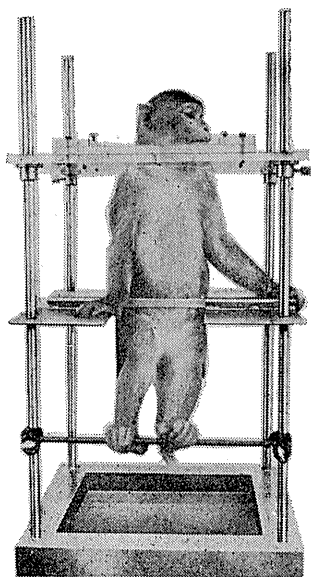
HAFFNER法

# 鎮痛効果測定装置

実中研 医学研究所 御指導



本装置は機械的刺激によるマウスの仮性疼痛反応閾値上昇から薬物の鎮痛効果を測定する装置であります。  
尾部に加わる圧力はモーターにより加圧されマンメーターにより記録されますので常に一定の加圧速度が得られ、かつ反応閾値を記録紙上で求めることが出来ます。



## モンキーチェア

実験動物中央研究所  
医学研究所 御指導

- 本装置チェアに依るモンキーの体重は3kg～6kg迄使用可能です。
- 汚物を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

- チェア固定盤 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 別途附属注文に応じます。

### 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. 36, No. 5 (1974)

**Originals**

- BEPPU, H. : Effects of the change of ion concentrations in Ringer solution and the cation replacements on the contraction of muscle fibers.....163
- YAMAMOTO, J. and NAGAMATSU, Y. : A small molecule proactivator of plasminogen derived from the macromolecule one by Lysin-Sepharose chromatography.....176
- MATUMOTO, M., KITAMURA, T. and HANBA, M. : Studies on the refractory period and the supernormal phase of the nerve fiber.....186

**Short communication**

- TOKURA, H. and SUGIYAMA, K. : Sweating in cynomolgus macaque (*macaca fascicularis*) exposed to ambient temperature of 40°C.....199

昭和四十九年四月二十日印刷

編集兼  
 発行人

東京都文京区湯島二丁目十八番六号  
 日本生理学会  
 塚田裕三

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

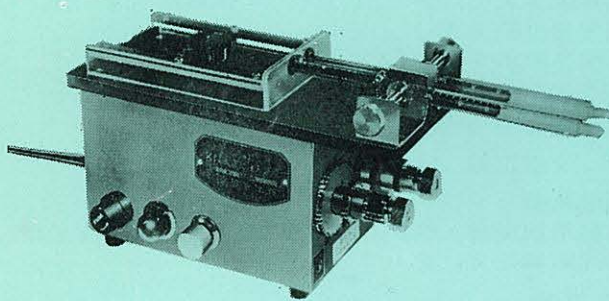
〒一三三  
 東京都文京区本駒込二丁目一三番二  
 日本生理学会

電話  
 代替  
 東京  
 九四五  
 三八五  
 三六四  
 五十三  
 円〇〇



# KN-20 I KN式微量注入器 H型 D型

## 仕様



1. 寸法.....巾80mm×長さ180mm×高さ95mm
2. 注入速度.....1時間用(H型)・24時間用(D型)
3. 変速方法.....ギヤー歯車交換による7段階(速度表参考)
4. 電動機.....減速機付コンデンサー・起動ヒステリシスモーター 1rpm 2W
5. 自動停止装置.....マイクロスイッチ装置
6. 使用注入器.....各種マイクロシリンジ、ツベル、ルイチン注射筒及び5ml、10ml注射筒迄可能
7. 附属品.....交換ギヤー1式・注射筒0.5、1ml各1本

実験動物解剖器具・一般研究実験器械器具・動物実験器械器具・動物飼育管理器具

株式会社 夏目製作所

東京都文京区湯島2丁目18番6号  
 電話 03(813)3251(代表)