

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

第16巻 第4号

Vol. 16 No. 4

昭和29年4月1日発行

April 1953

原 著

- 関口 晃: 赤血球浮游液の Catalase 能の研究(第Ⅲ篇) pH及び滲透圧の影響……………165
- 木村 光博: 甲状腺ホルモンの副腎皮質機能に及ぼす影響について……………169
- 志田 清英: 灌流-下肢血管-膜電位差の研究(第5報) Vitamin 効果の季節的差異……………174
- 川島 悦子: 塩縮抑制物質の透析及び Columnchromatogram に依る分子量の推定……………177
- 川島 悦子: 塩縮外液の全蛋白質量及び全 Amino 酸窒素量について……………185
- 川島 悦子: 温度に依る塩縮の有無と外液の全蛋白質量及び Amino 酸窒素量について……………189
- 近藤 勉: 自然刺激による, 筋紡錘求心性経神繊維における, 単一 Spike 発出……………193
- 小西 喜久治: 皮膚痛覚器に於る Slow process 並びに二重痛覚の問題……………199
- 錢場武彦・内藤善夫: 小腸から胃への抑制反射に就いて……………207
- 長谷川 弘・島田久八郎: 運動時の呼吸促進について(5) 骨骼筋に於ける化学受容器……………210
- 井上 五郎: 蛋白代謝と基礎代謝との関係(第1報) 蛋白摂取量と基礎代謝量との関係に就いて……………216

日 本 生 理 學 會

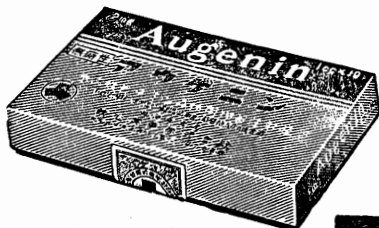
Physiological Society of Japan

静注

無痛・水溶性

できる...

V.A 剤



〔健保採用〕

〔包装〕

2mg (1cc × 10) ¥250
5mg (1cc × 10) ¥350
錠 1mg (30錠) ¥150

〔試供品・文献送呈〕

アウゲニンの出現は、ビタミンA治療界に一大進歩をもたらしました。世界最初の水溶性 V. A 剤 アウゲニンは、現在ますます治療分野を拡大しています。

- ① 吸収迅速で、体内における生理効果を高める。
- ② 無痛性で、注射後に硬結、腫張等を生じない。
- ③ 油剤やコロイド性剤に比し、使用が簡便である。
- ④ 効力が安定で、長期保存に耐える。
- ⑤ 皮注・筋注・静注・動注何れも可能で副作用がない。

水溶性ビタミンA剤

アウゲニン注

東京 中央区西八 堀2丁目17 救心製薬株式会社 M-5

〔新発売〕



★製法特許・米英諸外国特許出願中★

女性ホルモン学説を改新す...

女性々機能ホルモン完成！
〔文献・説明書進呈〕

吾社20年の研究によつて妊馬尿中より全く新しいホルモン（Synstroneと仮称）を発見し得た。その効力は1日量17にて従来の高単位製剤を遙かに凌ぐ効果を挙げ得る。エストロポン「モチダ」は Estradiol との複合体でその間の Interaction を期待し製品化した

- ☆高度月経障害
- ☆乳汁分泌不全
- ☆尋常性座瘡
- ☆更年期障害

25 Tab ¥200
1cc 10A ¥350

- ☆人工授精強化
- ☆腸蠕動防止
- ☆神経痛治療
- ☆骨折治療
- ☆婦科体位矯正
- ☆人工授精強化
- ☆腸蠕動防止
- ☆神経痛治療
- ☆骨折治療

大量皮下輸液の吸収促進
健康保険適用
☆局所浸潤・伝達麻酔の迅速・適確
☆化学療法後の慢性病巣透過性増進
☆慢性湿疹・固定性麻疹の新治療
☆腫瘍水腫の新治療

Hyalur onidase 発見者 Durn-Reynolds 氏と

研究交換!

〔文献集送呈〕

強力拡散因子ヒアルロニダーゼ

スプラーゼ

モチダ

製造発売元・持田製薬株式会社・東京都中央区日本橋室町3-1

赤血球浮遊液の Catalase 能の研究 612.111, 612.128

(第Ⅲ篇) pH 及び 滲透 圧 の 影 響

Studies on the Catalase Activity of Red Blood Cell Suspension.

III. Effects of pH and Osmotic Pressure of the Medium.

関 口 晃 (SEKIGUCHI-Akira)*

I. 赤血球 Catalase 能 に対する pH の影響

Catalase による H_2O_2 分解反応の至適 pH は 7 附近にあり、その catalase 能は反応液が酸性となるにつれて抑制される。Catalase 能と pH との関係については Williams, J.¹⁾, Stern, K. G.²⁾, Agner & Theorell³⁾ 等の報告があるが、彼らの測定はかなり長時間に亘っているため catalase の不可逆的破壊が起って居り充分信頼出来る成績とは云えない。小倉らは水素イオンによる抑制現象にもアジド若しくは phenol 類による反応阻害にみられる様な初期、後期の両状態が現われることを指摘し、反応速度論の見地から興味ある結果を報告している^{4) 5)}。

又 catalase の至適 pH は 7 附近にあると報告^{1) 2) 6)} されているが、Agner & Theorell によれば catalase が活性であるためには hemin Fe-OH の結合が必要である³⁾ ことにより、catalase 能は Chance, B. の報告のごとく pH 6~10 の領域に於て最高の値を示し⁷⁾、所謂至適 pH はアルカリ側に於て広い範囲に亘るものと考えられている。

精製 catalase の catalase 能と pH との関係は上述の如く多くの報告があるが、すでに報告した如く酵素液として種々な特異性を持つ赤血球浮遊液⁸⁾ に於ては、 H_2O_2 と catalase との反応が赤血球膜を介しておこなわれるので catalase 溶液とは相当異なった態度を示す事が予想される。之を明かにするため精製 catalase、溶血々液及び赤血球浮遊液の catalase 能と pH の関係を追求した。

A. 実験方法

馬の血液より抽出した精製 catalase、人静脈血より作った溶血々液および赤血球浮遊液の H_2O_2 分離反応に対する pH の影響を比較検討した。実験は磷酸緩衝液、Mc Ilvaine 緩衝液の 2 つについて行った。実験条件を一定にするため緩衝液はすべて等張にして用いた。即ち予め一定量の食塩を加えて等張にした M/15 第 2 磷酸ソーダ、M/15 第 1 磷酸カリ及び M/30 枸橼酸溶液を作り、これを原液とし等張な pH 約 3.2 乃至 8.5 の磷酸及び Mc Ilvaine 緩衝液系列を調製した (各緩衝液の氷点降下度を測定し、すべて等張であることを確めた)。

総ての緩衝液を 2 つに分ち、一方には H_2O_2 を加え N/25 H_2O_2 溶液とし、他方は試料の溶媒として精製 catalase 血液の稀釈に用いた。即ち精製 catalase⁹⁾ を 10000 倍、血液を 500 倍に緩衝液に稀釈し夫々精製 catalase、赤血球浮遊液の試料とした。又溶血々液は血液より遠心分離によって血清をのぞき、赤血球とほぼ同量の 0.01% アルコール溶液 (自然的不能攪化防止のため) を加え溶血せしめ、これを 500 倍に緩衝液に稀釈し試料とした。

上記の各試料 1 ml を稀釈 1 分後に夫々対応する pH の N/25 H_2O_2 溶液 5 ml に 25°C の恒温槽中にて作用せしめ、残存せる H_2O_2 をヨード法により滴定し catalase 能を測定した⁹⁾。作用時間は精製 catalase 及び溶血々液は 1 分間、赤血球浮遊液は 10 分間とした。この測定と同時に pH 測定のために、catalase 能測定と全く同じ反応液を作りこの pH をガラス電極 (精度 pH 0.01) で測定した¹⁰⁾。

B. 実験結果及び考按

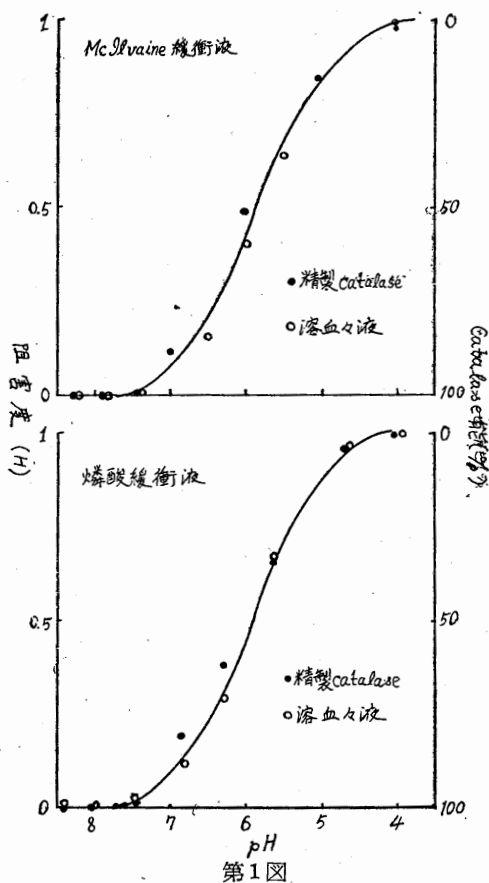
* 金沢大学医学部生理学教室

Catalase の H_2O_2 分解反応に対する水素イオンの抑制現象は、毒物阻害とおなじ取扱いをすることが出来る。小倉らによれば阻害度 H を $H = 1 - \frac{A_G}{A}$ (A は毒物のない時の catalase 能, A_G は毒物 G が $[G]$ なる濃度で存在する時の catalase 能) と定義すると, H と毒物の濃度 $[G]$ との間に

$$H = \frac{[G]}{\phi + [G]}$$

なる関係があるという⁷⁾。ここに ϕ は阻害度が 50% の時の毒物の濃度であって、毒物に特有な恒数である。従って H を縦軸に, $-\log[G]$ を横軸にとれば, 一次の sigmoid 曲線が得られ, この曲線から $\log \phi$ を容易に求めることが出来る ($-\log \phi$ は $p\phi$ として表わす)。

磷酸緩衝液及び Mc Ilvaine 緩衝液について得た結果を上記の方法で図示すると第 1 図の如



くなり, 典型的な一次の sigmoid 曲線を得る。

この際 H は catalase 能が最大で, しかも pH の変化によって変らない pH 7.5~8.5 の間の catalase 能を A として算出した。図より求めた $p\phi$ の平均を示すと

	磷酸緩衝液	Mc Ilvaine緩衝液
精製catalase	5.99	5.92
溶血々液	5.93	5.65

となる。緩衝剤の種類が異なると実験的に得られる $p\phi$ は異なるとされているが⁴⁾, 上記2種の緩衝液では精製 catalase, 溶血々液ともにほぼ同じ値であった。又精製 catalase の $p\phi$ と溶血々液の $p\phi$ との間にも差は認められなかった。この結果は小倉らの得た $p\phi=5.8$ とよく一致している⁵⁾。

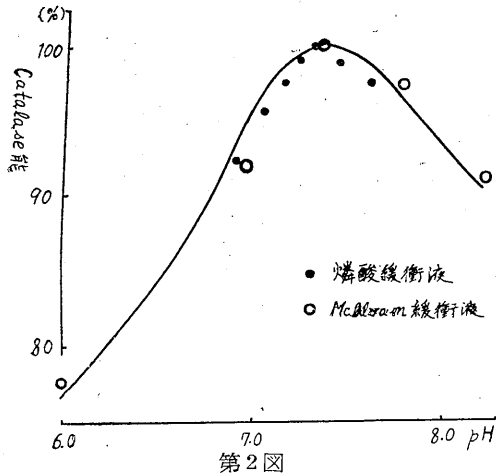
赤血球浮游液は pH 5 以下では溶血を起し一次の sigmoid 曲線を示さない。したがって $p\phi$ を得ることが出来なかった。

次に catalase の至適 pH は 7 附近にあるとされていたが^{1) 2)}, 最近小倉らはアルカリ側では活性度は殆んど変化しないと云って居り, Chance, B. も同様な結果を報告している⁷⁾。精製 catalase, 溶血々液では上述した如く pH 7.5~8.5 の間で catalase 能が最大であり, しかも同じ値を示す。したがって所謂至適 pH は 7 附近に局限することなく, アルカリ側に於て広い範囲に亘って存在するものと推定することが出来る。

赤血球浮游液は pH 6.0~8.5 の間では溶血しない。この間の catalase 能と pH の関係を求めると第 2 図の如くなる。これより赤血球浮游液は pH 7.0 以下及び 7.8 以上になると catalase 能は低下し pH 7.4 に於て著明な極大を示す。即ち赤血球浮游液では至適 pH が 7.4 に局在していることが分る。図より得た至適 pH の平均は

	磷酸緩衝液	Mc Ilvaine緩衝液
至適 pH	7.38	7.39

であり, 緩衝液による相違はみとめられなかった。この結果は血液の生理的 pH に於て赤血球の示す catalase 能が最大であることを示す。



Ⅱ. 赤血球 catalase 能に 対する滲透圧の影響

赤血球浮游液は血液を生理的食塩水 ($\Delta = -0.56^\circ\text{C}$) に稀釈したものであって、その catalase 能は赤血球膜の透過性、表面積等によって影響される所が大きいと考えられる⁸⁾。この際溶血に至らない範囲内に於て溶媒の滲透圧が変化すると、之らの要因が変化して catalase 能に対し影響を与えることが予想される。かかる見地から赤血球浮游液の catalase 能に対する滲透圧の影響を検討した。

実験に際して滲透圧の異なった溶媒は pH 6.8 の M/15 磷酸緩衝液に加える食塩の量を加減して調製した。この場合滲透圧が大きければ大きい程その食塩の濃度は大となるから、いわゆる catalase 能に対する食塩の影響を無視することは出来ない。これを明かにするため溶血々液について各滲透圧に於ける catalase 能を追求し、赤血球浮游液の場合と比較検討した。

A. 実験方法

pH 6.8 の M/15 磷酸緩衝液の氷点降下度 $\Delta = -0.26^\circ\text{C}$ であるから、これに適当量の食塩を加え (0.5% の割に加えると等張になる) 氷点降下度が -0.38°C から -0.77°C に至る 9 種の滲透圧の異なった溶媒の系列を調製した。

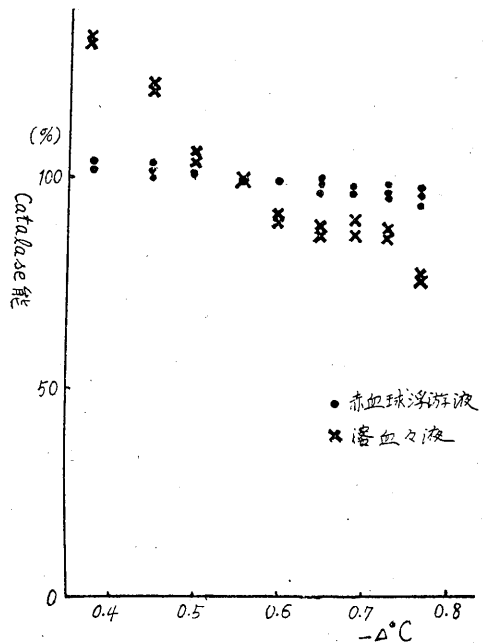
かくして得た溶媒を 2 つに分ち一方には H_2O_2 を加えて N/25 H_2O_2 溶液を調製し、他方は赤血

球浮游液、溶血々液の試料を作るのに用いた。赤血球浮游液は人血を 500 倍に溶媒に稀釈し、1 時間室温に放置した後 catalase 能を測定した。これは赤血球と溶媒との間の滲透圧が平衡に達するに要する時間である¹¹⁾。溶血々液は I と同様に血液を処置し、溶媒に 500 倍に稀釈して試料とした。

Catalase 能の測定は I と同様に各滲透圧の溶媒の試料を夫々これと等滲透圧の N/25 H_2O_2 液に一定時間作用させて、残存する H_2O_2 を過マンガン酸カリで滴定した。この様に測定するときは各試料は稀釈した溶媒とおなじ溶媒中で catalase 能を発揮させることが出来る。

B. 実験結果及び考察

等張な溶媒 ($\Delta = 0.56$) 中に於ける catalase 能を 100 とし、各滲透圧に於ける catalase 能の百分率をとり滲透圧との関係を図示すると第 3 図の如くなる。この際赤血球浮游液では、catalase の溶媒 (赤血球内) の滲透圧、及びその容器た



る赤血球の形態や血球膜の性状ともに変化し、之等が catalase 能に影響を与えるものと想像される。これに反し溶血々液では catalase の溶媒の滲透圧のみが変化し、従って血球浮游液

の場合よりも滲透圧の catalase 能に及ぼす影響は少いものと予想される。然るに事實は第3図の如く、赤血球浮游液の catalase 能は溶血々液に比して媒体滲透圧の変化による影響が遙に少いことが確認される。

斯る相違を来す原因に関しては未だ確実な知見を得ていないが、catalase は赤血球内に保持されることにより、その機能の恒常性をよりよく維持し得る状態に在ることを立証したことになる。このことは第1篇の H_2O_2 分解反応、不能分化に関する実験に於ても指摘された⁸⁾ ことであり、又毒物阻害に対する態度 (未発表) に於ても見られることであって酵素液としての赤血球浮游液の最も著明な特徴の1つである。

Ⅲ. 結 論

赤血球浮游液と溶血々液の catalase 能に対する pH 及び滲透圧の影響を比較検討し次の結果を得た。

1. 酵素液としての溶血々液の pH 阻害曲線は典型的な sigmoid 曲線を示し pH 5.9 に於て阻害は50%に達する。これに反し赤血球浮游液は pH 5 以下で溶血を起し sigmoid 曲線を示さない。

2. 溶血々液の catalase 能の至適 pH は大約 7.5 以上のアルカリ側の広い領域に互り、赤血球浮游液の catalase 能の至適 pH は 7.4 である。

3. 赤血球浮游液の catalase 能に対する滲透圧の影響は同じ溶媒の溶血々液の catalase 能にたいする影響より小さく、赤血球浮游液の catalase は滲透圧の影響に対しても食塩の影響に対しても保護されている。

終りに当り 御指導御校閲を賜った 斎藤教授に感謝します。

文 献

- 1) Williams, J. (1928) The decomposition of hydrogen peroxyde by liver catalase. J. gen. Physiol. 11, 309
- 2) Stern, K. G. (1932) Über das optische Verhalten der Katalase. Hoppe-Seyler's Z. 212, 207
- 3) Agner, K. & H. Theorell (1946) Arch. Biochem. 10, 321
- 4) 小倉安之・日野精一・殿村雄次 (1949) カタラーゼ反応の毒物阻害機構について 酵素化学シンポジウム 第1集 43
- 5) 小倉安之・日野精一・殿村雄治 (1949) カタラーゼの研究 化学の研究 第4集 73
- 6) Sörensen, S. P. L. (1909) Enzymstudien 11, Biochem. Z. 21, 131
- 7) Chance, B. (1952) Effect of pH upon the reaction of enzyme-substrate compounds of catalase. J. Biol. Chem. 194, 471
- 8) 関口 晃 (1953) 赤血球浮游液のカタラーゼ能の研究 第1篇 日本生理誌 15, 357
- 9) 斎藤幸一郎 (1948) 血液カタラーゼの研究 1 医学と生物学 13, 279
- 10) 斎藤幸一郎 (1953) 手製のガラス電極について 十全医誌 55
- 11) 辻 成人 (1953) 低張性溶血に於ける赤血球滲透抵抗力測定の意味について 十全医誌 55, 319

Summary

1) Effect of pH on the catalase activity of red cell suspension and hemolysate were studied over the range of pH 3.0 to 8.5. The catalase activity of hemolysate was maximum in the wide pH range of 7.5 to 8.5, while it fell gradually with the decreased pH value of the medium, showing a typically sigmoid pH-inhibition curve. Its point of inflexion, corresponding to 50 % inhibition, lay at pH 5.9. On the other hand, the red cell suspension proved to show a distinct maximum of its catalase activity at pH 7.4, but failed to give a sigmoid pH-inhibition curve because it gave rise to hemolysis in a pH range of less than 5.

2) Effect of osmotic pressure of the medium on the catalase activity of hemolysate as well as red cell suspension were studied. Increased osmotic pressure always resulted in a fall of catalase activity, the effect being more prominent in hemolysate than in red cell suspension.

(Department of Physiology, Medical School, University of Kanazawa)

甲状腺ホルモンの副腎皮質機能に及ぼす影響について 612.44:612.45

Influence of Thyroid Hormone on Adrenal Cortical Activity in Rats.

木 村 光 博 (KIMURA-Mitsuhiro)*

I. 緒 言

甲状腺と副腎皮質との関係について近年種々の観点から研究が進められている。Soffer 等¹⁾によると、ACTHは甲状腺刺激ホルモンの分泌に抑制的であるという。Money等²⁾は副腎皮質ステロイドが直接もしくは前葉を介して間接に甲状腺の機能の調節にあずかっていると述べている。また特発性粘液水腫および脳下垂体性粘液水腫の際に副腎皮質機能は著しく衰える³⁾。Long⁴⁾も甲状腺機能が低下するとき皮質の機能が減退することをみとめたが、一方皮質機能が亢進した場合に甲状腺機能に減退がみられるともいう。

著者は副腎皮質の分泌能に対して甲状腺の機能状態の変化がいかに影響するかを観察する目的で、実験的甲状腺機能低下状態ならびに機能亢進状態におけるシロネズミの副腎アスコルビン酸 (AsA) 量を測定した。Sayers等⁵⁾はシロネズミ及びモルモットに ACTH を注射した場合に副腎 AsA 及びコレステロールが著明に低下することを見出した。ACTHによる副腎AsA量の低下については、皮質からアスコルビン酸ステロイド結合物が分泌されるといわれ⁶⁾、Lowenstein 等は皮質ステロイドとアスコルビン酸の結合物質の分離及び定性について報告している。Sayers 等は ACTH の投与量と副腎AsA量の低下との間には直線的関係があって、副腎皮質のステロイドホルモンはアスコルビン酸量の減少に特定の関連があることをみとめ、副腎 AsA 濃度は副腎皮質機能の示標として適していると主張している。本実験においても副腎皮質分泌機能の判定に副腎 AsA 含量を測定した。

II. 実験方法

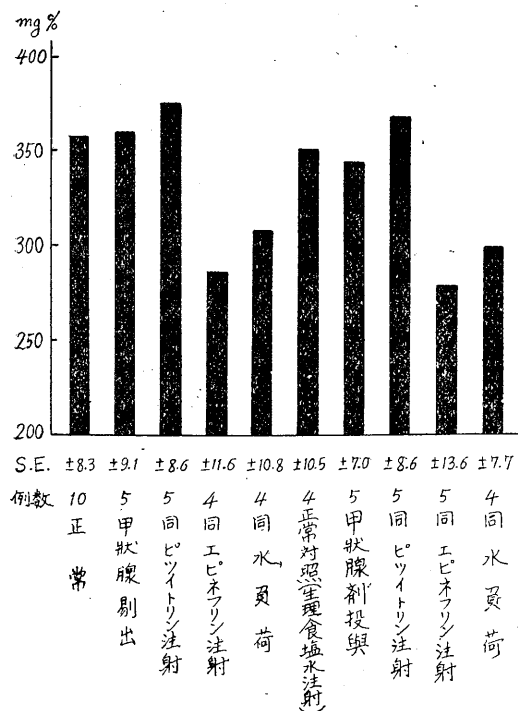
実験動物は体重 200g 前後の成熟シロネズミを使用し甲状腺機能亢進の目的で体重 100g につき 10mg のチラーヂン (帝国臓器製甲状腺製剤) を毎日皮下注射しつつ10日目及び4週目に実験に供した。また機能低下の目的で甲状腺の全剔出手術を行い、手術後10日目及び4週目に実験をおこなった。動物は頭部打撲によって殺し、直ちに副腎を取り出し結締組織を除去、torsion balance を使用して秤量後、藤田氏法⁷⁾に従って2%メタ燐酸で浸出してクエン酸ソーダ緩衝液で pH 3.0 とし、遠沈、上澄液について還元型アスコルビン酸濃度をインドフェノール法によって測定した。

III. 実験成績

A. 甲状腺剔出および甲状腺剤投与による影響

甲状腺剔出を行ったシロネズミ副腎AsA量は剔出後10日目においてその平均値 $359 \pm 9.1\text{mg}\%$ であり4週目において $317 \pm 9.8\text{mg}\%$ であった。これを対照とした正常シロネズミの $357 \pm 8.3\text{mg}\%$ に比べると、10日目においてはほぼ正常値にあるが、4週目においてはかなりの減少を示している。また甲状腺剤投与群における副腎 AsA 量は投与開始後 10 日において平均値 $345 \pm 7.0\text{mg}\%$ であって稍減少の傾向にあり、4週後においては $415 \pm 9.8\text{mg}\%$ とかなりの増加をみとめた。なお対照として生理的食塩水 $0.1\text{cc}/100\text{g}$ を連日皮下注射した群は4週目において $364 \pm 10.3\text{mg}\%$ であって正常ネズミ群とはほぼ同様な値を示した。これらの関係は第1図及び第2図に示される如くである。実験的甲状腺剔出、甲状腺腫発生物質投与、およびサイオユラシールの投与後には皮質の萎縮の為に副腎

* 名古屋大学医学部生理学教室第1講座



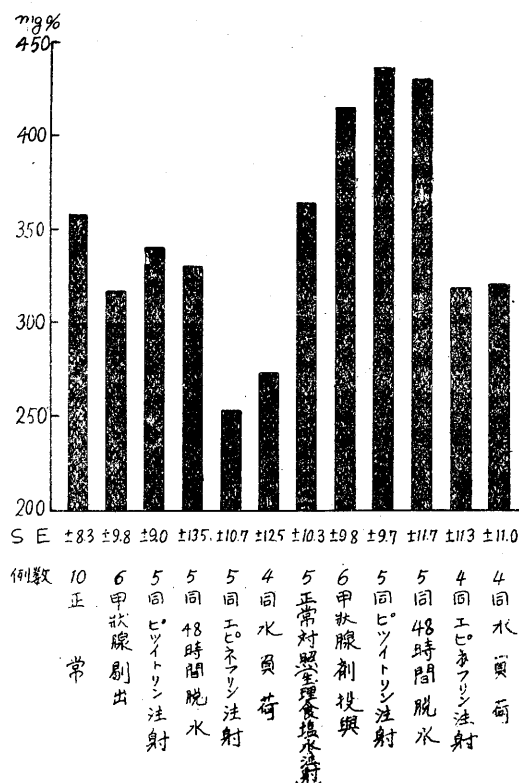
第1図

甲状腺剥出10日後ならびに 甲状腺剤投与 10日後の副腎AsA量

重量が減少し甲状腺の投与後には皮質の肥大の為に副腎重量が増加する^{8) 9) 10)}。本実験では各12例のシロネズミについて両側副腎重量を測定した結果は体重 100g 当り正常 $15.8 \pm 0.4\text{mg}$ 、甲状腺剥出後4週のシロネズミでは $14.0 \pm 0.7\text{mg}$ 、甲状腺剤連日投与4週においては $17.8 \pm 0.5\text{mg}$ であって従来の報告に一致する。

B. 甲状腺剥出および甲状腺剤投与シロネズミの副腎 AsA 量に及ぼすピットリソ投与ならびに脱水の影響

甲状腺剥出10日後においてピットリソ (大日本臓器製ピットタン) 40m.u./100g.b.w. 皮下注射後60分における副腎 AsA 量は平均 $373 \pm 8.6\text{mg}\%$ で対照群 $359 \pm 9.1\text{mg}\%$ に比して増加を示し、同様4週後においては $340 \pm 9.0\text{mg}\%$ であって対照群 $317 \pm 9.8\text{mg}\%$ に比べてやはり増加をみた。また測定前48時間飲水ならびに一切の飼料を与えず脱水状態に陥らしめたシロネズミでは甲状腺剥出後4週目のもので 330 ± 13.5



第2図

甲状腺剥出4週後ならびに 甲状腺剤投与4週後の副腎AsA量

$\text{mg}\%$ であり、対照値にくらべてやや増加の傾向にあった。一方チラーゲン投与群に同じくピットリソ 40m.u./100g.b.w. を注射した例では60分後の副腎 AsA 量は10日目では $368 \pm 8.6\text{mg}\%$ 、4週目では $436 \pm 9.7\text{mg}\%$ 、4週後48時間脱水したシロネズミでは $430 \pm 11.7\text{mg}\%$ とこれまた対照群10日目 $345 \pm 7.0\text{mg}\%$ 、4週目 $417 \pm 9.8\text{mg}\%$ に比べて増加している (第1図及び第2図参照)。甲状腺と脳下垂体後葉との関係については明確でない点が多く、Mohouney¹¹⁾ は犬において甲状腺の利尿作用と後葉の抗利尿作用との間に拮抗的關係があると報告しているが、Swann等¹²⁾ はシロネズミにおいてそれ程著しい事実を認めていない。動物を脱水した場合に脳下垂体後葉から抗利尿ホルモンが分泌され、脱水48時間後において抗利尿作用が著明となることが知られているが¹³⁾、本実験において

脱水の場合もピットリノ注射の場合と同様な傾向を示しているところは、脱水に際して抗利尿ホルモンの分泌が亢進し、このホルモンが副腎皮質の分泌に影響するものと思われる。要するに以上の成績から、後葉ホルモンは副腎皮質分泌に対して抑制的に作用すると考えられ、これには甲状腺機能状体の亢進あるいは減退が何等関係しないものの如くである。

C. 甲状腺機能低下ならびに亢進シロネズミの副腎 AsA 量に及ぼすエピネフリンの影響

エピネフリンをシロネズミに注射した場合に副腎 AsA 及び副腎コレステロール含量は短時間で著明に低下する⁴⁾。これはエピネフリンが脳下垂体前葉細胞に作用して ACTH を分泌させるものであると云われる。本実験においてエピネフリン 0.02mg/100g.b.w. を皮下注射し60分後に測定した副腎 AsA 量は、正常ネズミの場合平均 $278 \pm 12.4\text{mg}\%$ であったのに対して、甲状腺切除後10日を経たネズミでは平均 $286 \pm 11.6\text{mg}\%$ であり、4週を経たものでは $253 \pm 10.7\text{mg}\%$ であった。また甲状腺剤投与10日後のネズミに同量のエピネフリンを注射した際の AsA 量は $280 \pm 13.6\text{mg}\%$ 、4週目の場合では $318 \pm 11.3\text{mg}\%$ であった。この値をエピネフリンを注射しない夫々の動物の値に比べると、甲状腺切除群では10日後でも4週後でもいずれも対照より20%の低下であった。甲状腺剤投与の群では10日後21%、4週後24%の低下を示した。正常動物にエピネフリンを同様にして与えた場合の低下は22%であるから、甲状腺切除においても、甲状腺剤の投与でもエピネフリンに対する副腎 AsA 量の減少はほぼ同程度であると云える。

D. 甲状腺機能低下ならびに亢進シロネズミの副腎 AsA 量に及ぼす水負荷の影響

体重の15%に相当する水を金属製胃管によって90分間隔で3回に分けて飲ませ60分後に副腎 AsA量を測定した。第1図及び第2図に見られるように甲状腺切除群では10日目のもので $308 \pm 10.8\text{mg}\%$ 、4週目 $320 \pm 11.0\text{mg}\%$ であっていずれも低下を示していた。過剰の水を負荷した

際、これを急速に体外に排出するためには副腎の存在が必要であり¹⁷⁾、そのとき副腎 AsA 量が著明に減少することは著者¹⁸⁾がさきに報告した。本実験で甲状腺機能状体の亢進または減退した動物について検した結果も、上記の如く正常動物における反応とはほぼ同様であった。

II. 考 按

Freedman 等⁹⁾によると、甲状腺切除後48時間で副腎皮質の分泌は非常な亢進を示すが、その後徐々に恢復するという。これはおそらく手術による侵襲の影響であると解される。本実験において手術後10日目に測定した AsA 値はほぼ正常値を示しており、この時期になれば手術の Stressとしての影響が全くなっているものと考えられる。さらに時日を経過して手術後4週に至れば、いわゆる甲状腺機能低下の状态となって、副腎に萎縮がおこり副腎の重量が減じ、その AsA 量が明らかに低下する。かかる副腎の萎縮について Sayers⁵⁾ は、甲状腺機能低下に由来して代謝が低くなると、それに適応して AsA の合成ならびに移動が少くなり、とくに副腎皮質ホルモンの分泌の低下を来すものであると考えた。また Zarrow 等¹⁵⁾は甲状腺機能の低下に対応して下垂体における甲状腺刺激ホルモンの産生ならびに分泌が多くなるために ACTHの分泌が減少するのであろうと云って居り、これに対して甲状腺機能の変化が直接副腎に影響するとの説もある⁹⁾。Lerman等³⁾によれば粘液水腫の際には甲状腺機能の減退に伴って非特異的に副腎皮質細胞の代謝が阻害される為に皮質分泌が低下する、一方脳下垂体性粘液水腫では皮質分泌の低下が更に著しいが、この場合は特異的に皮質分泌機能が減退する為であろうという。

甲状腺剤投与動物においても投与後10日目では副腎 AsA値はやや減少の傾向にあるが、4週目に至って甲状腺機能亢進状態が著明となり、副腎の肥大が見られ副腎重量が増加した。そしてこの時期では AsA値もかなりふえていた。すなわち初めの間は血中へ放たれる皮質ホルモン

量の増加があると考えられるが、甲状腺機能の亢進にともなう、皮質ホルモンの分泌が亢進すると共に合成も旺んとなるのであろう。同様のことは Wallach 等¹⁰⁾もこれを認めている。

さらに本実験においては、甲状腺剔除ならびに甲状腺剤投与によって副腎皮質分泌が低下または増加している場合にも、ピットリチン投与および脱水による AsA 量の増加傾向、エピネフリン投与または水負荷による AsA 量の減少は正常動物におけると略同様な割合であった。このことは甲状腺機能の変化にもとづく代謝の減退、亢進によって副腎の重量ならびに AsA 量に増減があっても、その反応はほぼ正常に営まれるものであることを示している。

Gabrilove 等¹⁶⁾によるとネズミに甲状腺腫発生物質を与えると副腎皮質が萎縮し副腎 AsA 量は低下するが、エピネフリンおよび ACTH に対する反応は正常とかわりないという。この点本実験成績に一致する。しかし人間で甲状腺機能亢進症では粘液水腫に比べてエピネフリンに対する感受性が鋭敏となり、エピネフリン注射によって代謝、脈搏、血圧等が著明に亢進するといわれている³⁾。本実験においてかかる著明な変化を見出し得なかったが、云う迄もなく人の病的状態と動物の実験的機能障害とを同一に扱うことは困難であって、その相違が単に種属的なものによるか否かは今後の研究にまたねばならない。

甲状腺の投与によって水代謝が促進することが知られている¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾。Gaunt²²⁾ はネズミに thyroxine を投与して、水の摂取量と排尿量が 2 倍になったというが、正常動物で甲状腺を剔除しただけでは水代謝にほとんど影響がないから、甲状腺の水代謝における意義はさほど大きいものでないと言えよう。一方水負荷時副腎皮質が特に重要な意義をもつことは前述のとおりであって、水利尿に際して AsA 量の著明な減少をみるが、これには甲状腺機能状態の亢進または抑制が何等影響しないこともさきに述べたとおりである。また脱水時後葉から ADH が分泌せられ、この後葉ホルモンは副腎 AsA 量の

変化に対して抑制的であることを著者は認めた¹⁸⁾、この関係も甲状腺機能亢進あるいは低下によって影響がないことを知り得た。従って、甲状腺ホルモンがたとえ副腎皮質の重量ならびに AsA 量に変化を与えんとしても、皮質の反応自体には本質的な変化をもたらしものではないと思われる。

IV. 結 論

シロネズミの皮質分泌機能に対する甲状腺の影響を副腎アスコルビン酸量の変動を示標として観察して次の如き結果を得た。

1) 甲状腺剔除によって 4 週後に著名な副腎の萎縮が起り、副腎アスコルビン酸量が低下した。甲状腺剤の 4 週間連続投与により著しい副腎の肥大が見られ、そのアスコルビン酸量は増加した。しかし各処置後 10 日目では副腎アスコルビン酸量はほぼ正常値を示した。

2) 甲状腺剔除後 4 週ならびに甲状腺剤投与 4 週後の副腎アスコルビン酸量はピットリチン投与および 48 時間の水分禁絶によって正常と同様な反応を示して増加した。

3) 甲状腺剔除後 4 週ならびに甲状腺剤投与 4 週後の副腎アスコルビン酸量はエピネフリン投与および大量の水負荷によって正常と同様な反応を示して著しく低下した。

稿を終るに臨み、御校閲を賜った恩師久野教授ならびに終始御指導を戴いた 伊藤助教授に 深甚なる感謝を捧げる。

文 献

- 1) Soffer, L. J., J. L. Gabrielove and W. R. Dorrance (1951) Effect of adrenocorticotropin on thyroidal collection of I_{131} in the adrenalectomized and intact rat. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 76, 763
- 2) Money, W. L., L. Kraititz, J. Fagar, L. Kirshner and R. W. Rowson (1951) The effects of various steroids on the collection of radioactive iodine by the thyroid gland of the rat. Endocrinology 48, 682
- 3) Lerman, J. (1942) Glandular Physiology and Therapy Chicago: Am. Med. Ass. 379
- 4) Long, C. N. H. (1952) Annual Review of Physiology 14 より引用
- 5) Sayers, G. and M. A. Sayers (1948) Recent

- Progress in Hormone Research N. Y. : Academic Press 2, 81
- 6) Li, C. H. and H. M. Evans (1947) Vitamins and Hormones N. Y. : Academic Press 5, 197
 - 7) 藤田秋治 (1948) ビタミンの化学的定量法 誠文堂新光社
 - 8) Zarrow, M. X. and W. L. Money (1949) Involution of adrenal cortex of rats treated with thiouracil. *Endocrinology* 44, 345
 - 9) Freedman, H. H. and A. S. Gordon (1950) Effects of thyroidectomy and of Thiouracil on adrenal weight and ascorbic acid. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 75, 792
 - 10) Wallach, D. P. and E. P. Reineke (1949) The effect of varying levels of thyroïdal stimulation on the ascorbic acid content of the adrenal cortex. *Endocrinology* 45, 75
 - 11) Mohouney, W. and D. Sheehan (1935) The effect of total thyroidectomy upon experimental diabetes insipidus in dogs. *Am. J. Physiol.* 112, 250
 - 12) Swann, H. G. and P. E. Johnson (1939) Thyroid function in diabetes insipidus in the rat. *Endocrinology* 24, 397
 - 13) Gilman, A. and L. Goodman (1937) The secretory response of the posterior pituitary to the need for water conservation. *J. Physiol.* 90, 113
 - 14) Long, C. N. H. and E. G. Fry (1945) Effect of epinephrine on adrenal cholesterol and ascorbic acid. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 59, 67
 - 15) Zarrow, M. X. and I. G. Zarrow (1951) Mechanism of adrenal involution in the rat after treatment with thiouracil. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 76, 620
 - 16) Gabrilove, J. L. and L. J. Soffer (1950) Adrenal cortical response of propylthiouracil treated rats to the administration of epinephrine and adrenocorticotropin. *Endocrinology* 47, 461
 - 17) Gaunt, R. (1951) Recent Progress in Hormone Research N. Y. : Academic Press 6, 247
 - 18) Kimura, M. Influence of antidiuretic hormone on adrenal cortical activity in rats. *Jap. J. Physiol.* (印刷中)
 - 19) Bruhn, J. M. (1942) The relation of heat production to water metabolism during the administration of synthetic thyroxine. *Am. J. Physiol.* 135, 572
 - 20) White, H. L., P. Heinbecker and E. C. Robinson (1938) Effects of thyroid, dinitroöthocresol on urine output of thyroidectomized dogs with moderate diabetes insipidus. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 38, 439
 - 21) Fisher, C., W. R. Ingram, W. K. Hare and S. W. Ranason (1935) The degeneration of the supra-opticohypophyseal system in diabetes insipidus. *Anat. Rec.* 63, 29
 - 22) Gaunt, R. (1949) *Feder. Proc.* 3, 12

Summary

The effect of thyroid hormone on the ascorbic acid content of adrenals was investigated in rats.

1) Surgical thyroidectomy produced a pronounced adrenal atrophy and a decrease in adrenal ascorbic acid concentration 4 weeks after the operation. Daily administrations of thyroid for 4 weeks resulted in a pronounced hypertrophy of the adrenal glands and an increase of adrenal ascorbic acid concentration. The adrenal ascorbic acid concentration of both thyroidectomized and thyroid administered rats, observed after 10 days, showed no significant change from normal level.

2) In spite of a decreased or an increased resting content of ascorbic acid, its concentration in hyper- or hypothyroid rats increased after pituitrin administration and water deprivation, and depleted after epinephrine administration and excessive water load, as much as in normal animals.

(*Institute of Physiology, School of Medicine, University of Nagoya*)

灌流-下肢血管-膜電位差の研究 612.133.083:612.014.423

(第5報) Vitamin 効果の季節的差異

Studies on the Membrane Potential with Reference to the Perfusing Blood Vessels of a Skinned Toad's Leg. Part V. On the Seasonal Variation of the Effect of Vitamins B₁, C, K upon the Membrane Potential.

志 多 清 英 (SHIDA-Kiyohide)*

I. 緒 言

Vitamin B₁ (V.B₁), Vitamin C (V.C) 并に Vitamin K (V.K) は、灌流-下肢血管-膜電位差を上昇せしめ、灌流液量の標示たる滴数を減少せしめる。即ち第4報に記載したⅡ型の薬物に属する。殊に此の中で V.B₁ 及び V.C の電位差上昇効果は甚だ著しい。所で第1報及び第3報所載のように、此の膜電位差は季節的に変化することが判ったから、薬物の膜電位差に対する効果も季節によって相違を来すことが類推せられる。此の事柄を検証するには、膜電位差の変化が著しく且つ作用傾向の常に一定せる薬物を使用して実験することが望ましい。私は此の意味に於て、V.B₁, V.C 及び V.K を選び、其の効果を別々の2つの季節に於て検索した。第1の季節をⅠ期、第2の季節をⅡ期と名づける事にする。V.B₁ ではⅠ期はⅡ月に、Ⅱ期はⅢ月にとった。V.C ではⅠ期はⅢ月、Ⅱ期はⅣ月になっている。V.K ではⅠ期はⅣ月、Ⅱ期はⅤ月である。斯様にして実験した結果、Vitamin 剤の灌流-下肢血管-膜電位差を上昇せしめる効果が、季節により相違することを確かめることが出来たから以下其の結果を記述する。

Ⅱ. 実験方法

実験材料、手術方法、実験装置、測定方法等は第4報所載と同一であるから此処には省略する。実験成績表に於ける E は対照液 (0.65% NaCl 溶液) 灌流による電位差の平衡値をしめし、E'₁₅, E'₄₅ は夫々被検液 (Vitamin 剤を含む 0.65% NaCl 溶液) に切替後15分及び45分の電位差を示した。Z は対照液灌流による灌流量滴数の平衡値を表わし、Z'₁₅, Z'₄₅ は被検液に切替後15分及び45分の滴数を表わした。尚電位差の上昇下降及び滴数の増減の意義并に+, -, ±の意義は第4報所載のものと全く同一である。Vitamin B₁ は八洲化学、Vitamin C は武田製薬の純結晶を使用し、Vitamin K 剤たるカチーフは武田製薬の注射液を使用し、各 Vitamin 剤ともにⅠ期とⅡ期は全く同一のものを使用した。カチーフは重亜硫酸ソーダを等量に含有せるため、重亜硫酸ソーダ単独の実験を行い其の成績を参考的に記載した。

Ⅲ. 実験成績

各 Vitamin 剤のⅠ期及びⅡ期に於ける実験成績を表 No. 1~6 に掲げた。No. 7 には重亜硫

第1表 No. 1 0.1% V.B₁ (Ⅰ期)

年月日	室温 (°C)	E (mV)	E' ₁₅	E' ₄₅	上昇 (+) 下降 (-)	Z	Z' ₁₅	Z' ₄₅	増加 (+) 減少 (-)
20/Ⅱ 1950	11	- 9.0	-6.5	-3.3	+	17	25	23	+
" "	"	- 5.6	-2.0	+4.2	+	41	45	40	±
21/Ⅱ 1950	9	-12.3	-2.9	-3.8	+	30	36	29	±
" "	11	- 6.3	-2.5	+5.2	+	24	31	34	+
" "	12	-10.2	-7.4	+2.2	+	19	26	24	+
25/Ⅱ 1950	15	-13.2	-9.7	-3.6	+	34	35	30	±
" "	15	- 9.1	-4.5	-5.0	+	43	44	38	-
平均 値		- 9.4	-4.9	-0.6	+	30	35	31	-

* 京都府立医科大学生物物理化学教室

第2表 No. 2 0.1% V.B₁ (Ⅱ期)

年月日	室温 (°C)	E (mV)	E' 15	E' 45	上昇 (+) 下降 (-)	Z	Z' 15	Z' 45	増加 (+) 減少 (-)
7/VII 1950	30	-3.0	-0.6	+2.0	+	54	59	46	±
"	29	-5.7	-4.2	-2.0	+	57	62	50	±
8/VII 1950	31	-3.5	-2.7	-2.0	+	58	61	45	±
"	30	-3.1	-1.8	+0.9	+	47	50	42	±
10/VII 1950	28	-5.2	-3.3	-1.9	+	57	56	46	-
平均 値		-4.1	-2.5	-0.6	+	55	58	46	

第3表 No. 3 0.1% V.C (Ⅰ期)

年月日	室温 (°C)	E (mV)	E' 15	E' 45	上昇 (+) 下降 (-)	Z	Z' 15	Z' 45	増加 (+) 減少 (-)
27/III 1950	15	-6.5	+ 5.5	+ 4.2	+	37	28	20	-
"	17	-6.1	+14.7	+13.4	+	47	33	26	-
28/III 1950	14	-1.5	+12.3	+10.8	+	51	39	25	-
"	"	-2.3	+ 8.5	+ 4.9	+	42	29	18	-
"	15	0	+22.0	+16.5	+	52	36	21	-
平均 値		-3.3	+12.6	+10.0	+	46	33	22	-

第4表 No. 4 0.1% V.C (Ⅱ期)

年月日	室温 (°C)	E (mV)	E' 15	E' 45	上昇 (+) 下降 (-)	Z	Z' 15	Z' 45	増加 (+) 減少 (-)
5/VI 1950	21	-4.5	+9.3	+6.2	+	57	38	27	-
"	22	-4.5	+5.1	+3.4	+	51	34	21	-
6/VI 1950	18	-4.0	+4.3	+0.2	+	53	32	21	-
"	21	-3.6	+2.3	0	+	58	41	29	-
"	23	-4.7	+4.8	+2.1	+	57	39	27	-
平均 値		-4.3	+5.2	+2.4	+	55	37	25	-

第5表 No. 5 0.05% カチーフ (V.K剤) (Ⅰ期)

年月日	室温 (°C)	E (mV)	E' 15	E' 45	上昇 (+) 下降 (-)	Z	Z' 15	Z' 45	増加 (+) 減少 (-)
18/IV 1950	20	+ 1.2	+4.1	+3.1	+	33	30	20	-
"	19	-11.5	-9.6	-7.3	+	43	40	35	-
19/IV 1950	17	- 2.0	+1.9	-0.3	+	26	18	10	-
"	20	- 8.1	-2.5	-3.9	+	33	32	20	-
"	19	- 2.6	+2.5	+2.4	+	44	35	24	-
平均 値		- 4.6	-0.7	-1.2	+	36	31	22	-

第6表 No. 6 0.05% カチーフ (V.K剤) (Ⅱ期)

年月日	室温 (°C)	E (mV)	E' 15	E' 45	上昇 (+) 下降 (-)	Z	Z' 15	Z' 45	増加 (+) 減少 (-)
11/VII 1950	29	-3.4	-3.0	-3.0	+	51	48	41	-
"	"	-3.5	-3.0	-2.5	+	61	58	51	-
12/VII 1950	"	-3.0	-2.1	-2.3	+	63	55	51	-
"	28	-4.3	-3.4	-3.5	+	56	50	45	-
平均 値		-3.6	-2.9	-2.8	+	58	53	47	-

第7表 No. 7 0.05% 重亜硫酸ソーダ

年月日	室温 (°C)	E (mV)	E' 15	E' 45	上昇 (+) 下降 (-)	Z	Z' 15	Z' 45	増加 (+) 減少 (-)
1/VI 1950	20	-3.1	- 4.4	- 5.7	-	53	57	56	+
2/VI 1950	21	-6.0	- 7.3	- 7.7	-	51	55	65	+
"	21	-5.5	- 6.1	- 6.7	-	57	60	59	+
3/VI 1950	23	-9.2	-10.2	-10.8	-	57	60	57	+
平均 値		-6.0	- 7.2	- 7.7	-	55	58	59	+

酸ソーダのみの影響を表示した。Ⅰ期に於てもⅡ期に於ても V.B₁, V.C 及び V.K は全例に於て電位差を上昇せしめ滴数を減少せしめる。唯, Ⅰ期に於ける V.B₁ による滴数の変化のみ

は少々判然としない。重亜硫酸ソーダのみによる実験では、電位差を下降せしめ滴数を増加せしめるから、カチーフによる電位差の上昇、滴数の減少は V.K の作用によるものと断定出来

る。斯様に V. B₁, V. C 及び V. K は電位差上昇, 滴数減少の効果を持つている。然しこれをⅠ期とⅡ期で比較すると, 常にⅠ期の方がⅡ期よりも電位差上昇が著しい。No. 8 には平均値に於ける E₄-E を各期別に一括表示して此の関係を明かにした。なお此の表には第1報所載

第8表 No. 8

Vitamin	期	月	膜電位 差上昇 値	同液膜電位 差平衡値	
				1949年	1950年
V. B ₁	Ⅰ	Ⅱ	8.8	-3.7	0
	Ⅱ	Ⅶ	3.5	+3.9	+3.5
V. C	Ⅰ	Ⅲ	13.3	-1.9	-4.0
	Ⅱ	Ⅵ	6.7	+6.5	+4.6
カチーフ (V. K 剤)	Ⅰ	Ⅳ	3.4	+4.7	-0.8
	Ⅱ	Ⅶ	0.7	+6.5	+3.5

の同液膜電位差の平衡値をも記入した。第4報の考察に述べたように, Vitamin 剤の如く膜電位差を上昇せしめ滴数を減少せしめる薬物は, 毛細血管壁の内皮細胞に対しては, 其の内形質膜に膨化的に作用して透過性を増し, 起電的效果を減弱せしめ, 此の結果膜電位差を上昇せしめる。所で No. 8 に記入したように, 季節により同液膜電位差は変化し, Ⅰ期では例外なくⅡ期より低くなっている。これはⅠ期にはⅡ期よ

りも, 内皮細胞の内形質膜が縮化的になって透過性が減少し, 起電的效果が増強しているからである。斯様なⅠ期の内形質膜に対しては, 膨化的に仿いて透過性を増加せしめる Vitamin 剤の影響が, 既に膨化的になって透過性の増加しているⅡ期の内形質膜に対するよりも著明に現われることは当然のことである。私は之を以って Vitamin 剤の膜電位差上昇効果が, Ⅱ期よりもⅠ期に著しい理由と考えている。

Ⅳ. 総 括

墓の灌流-下肢血管-膜電位差に及ぼす V. B₁, V. C 及び V. K の膜電位差上昇効果は, Ⅱ~Ⅳ月の方がⅥ~Ⅶ月より著しいこと即ち Vitamin 剤の上記膜電位差に及ぼす効果に季節的差異のあることを見出した。そしてこれは第1報所載の同液膜電位差の季節的変動と, 第4報所載の起電機構とから説明出来ることを明かにした。

文 献

- 1) 齊藤貞二 (1954) 灌流-下肢血管-膜電位差の研究 (第1報) 同液膜電位差 日本生理誌 16, 2
- 2) 志多清英 (1954) 灌流-下肢血管-膜電位差の研究 (第4報) 諸種薬物灌流の影響 日本生理誌 16, 139

Summary

1) The effect of vitamins B, C, and K upon the membrane potential of blood capillaries of a toad's leg is more prominent in February-April than in June-July. In other words, it was known that there was a seasonal variation of the effect of vitamins B, C, and K upon the membrane potential.

2) This seasonal variation can be explained from the seasonal variation of the membrane potential between isotonic NaCl solutions which was described in Part I and the electric mechanism described in Part IV.

(Department of Bio-physico-chemistry, Kyoto Prefectural University of Medicine)

塩縮抑制物質の透析及び Columnchromatogram

に依る分子量の推定 612.744.2:541.24.08

A Trial to Measure Through Dialysis and Columnchromatographic Method
in Molecular Weight of the Anticontractile Substance Diffused
out from Skeletal Muscle during the Salt Contraction.

川 島 悦 子 (KAWAHISIMA-Etsuko)*

I. 序 論

生理的食塩水に浸した抽出骨骼筋がrhythmある収縮を繰返して生ずる事は古くから Meins⁴⁾等に依り知られているが、西山⁶⁾は始めてかかる収縮が一定時間後に必ず終ること、その終るのは筋そのものに原因があるのではなくその外液に収縮抑制物質が出て来るためである事を明らかにした。即ち塩縮に伴い或る物質が筋から外液中に放出せられ、それから一定濃度に達すると遂に塩縮が停止するに到るものと考えられた。かかる塩縮抑制物質は牟田⁵⁾に依って Ca ではないこと、菊地³⁾その他に依って水および Alcohol に出るが Ether, Chloroform には出ない特殊な有機物質である事等が明らかにされたが未だにその単離並びにその化学構造の決定は多くの困難の為に成功していない。

そこで著者は塩縮抑制物質の研究に当ってその分子量の推定が極めて重要な問題であると考えた。然し乍ら塩縮抑制物質の定量が生物学的方法に依存しなければならない現在、その分子量の推定も又極めて特殊な方法に依らざるを得ない。この目的の為に著者は塩縮抑制のセロファン膜透析速度を生物学的に定量するとともに Columnchromatogram を併用し抑制物質の極性を検討して分子量の推定を試みた。筋は墓若しくは食用蛙の縫工筋を使用し、精密な対照実験は常に同一動物の左右同名筋を使用した。塩縮の観察は常法^{3) 5)}に依った。

尚各種の定量測定等の実験方法は後章に於てその都度記載する。

II. セロファン膜透析に依る塩縮抑制物質の分子量の推定

A. 実験方法

濃度を異にする2つの溶液の境界面に於ける溶質粒子の拡散速度は境界面に於ける濃度勾配に比例すると共に溶質分子量と簡単な函数関係を示すものである。即ち拡散速度は分子量の大なる程小さく、分子量の小なる程大きい。半透膜を介して行われる溶質の拡散は基本的にはかかる拡散の原則に従うが、更に半透膜孔の大きさが重大な役割を演ずる。即ち微細な透析孔を通じて行われる物質の移動速度はその物質の溶液に於ける極性は無視するとすれば溶質分子量の大なる程小さい。即ちセロファン膜を通じて行われる物質の透析速度はその分子量の大なる程小さい。そこで著者はセロファン膜を通じて行われる抑制物質の拡散速度を内外液の塩縮に対する抑制効果から測定し、これを分子量既知の物質の拡散速度と比較し抑制物質の分子量の推定を試みようとした。尚本実験に於ける透析膜としてはセロファンを Ethanol, Ether 流水および蒸溜水で十分に洗ったものを使用した。Creatinine 溶液は Bonsnes and Tausky¹⁾の Photometric の方法を、Glucose 溶液はFolin²⁾の Photometric の方法を用いた。

B. 塩縮抑制物質の透過性

縫工筋を取出し6ccの0.7% NaCl 液に入れる。その中で筋を5時間塩縮させた後、筋を除く、この塩縮外液をセロファン膜製の附したガラス管に移し30ccの蒸溜水で3時間透析を行う。次で透析外液を煮沸し、5.0ccとしpH

* 慶応義塾大学医学部生理学教室

を中性に補正する。対照には 6.0cc の 0.7% NaCl 液を同様にして透析しその外液を 5.00cc に煮つめたものを使用した。尚試験液及び対照液中の NaCl の濃度は Shales and Shales⁷⁾ の方法にて定量した後生理的なものに補正した。次で左右の縫工筋を剔出し試験液及び対照液中に入れその塩縮時間を測定し第 1 表に示した。

第 1 表

実験例	室温 (°C)	対照塩縮持続時間	試験液塩縮持続時間
1	21	1'58'	22'
2	24	2' <	24'
3	26	2' <	26'
4	24	1'25'	31'30''
5	23	1'41''	23'
6	24	2' <	36'30''
7	24	2' <	24'30''

即ち 7 例の全例に於て試験液に於ては塩縮時間は著名に短縮した。次で別な角度から塩縮抑制物質が透析性であると云う事を確めるために以下の実験を行った。縫工筋を取出し 5cc の 0.7% NaCl 液中に入れ塩縮が止ってから 20 分後にセロファン膜嚢を附したガラス管に移し、700cc の 0.7% NaCl 液中にて透析を行いつつ第 1 次塩縮の止った筋の再び動き出すのを確めた。成績は第 2 表に示す。

第 2 表

実験例	室温 (°C)	塩縮再現に要した時間 (分)	再現した塩縮の持続時間 (時)
1	23	34	2 <
2	24	57	2 <
3	23	54	2 <
4	23	46	2 <
5	25	51	2 <
6	26	27	2 <
7	21	36	2 <
8	21	34	2 <

即ち墓の縫工筋に於ては何れも 30~60 分の間に再び塩縮を起し 1 時間以上この収縮は持続した。これ等の事は塩縮抑制物質が透析可能である事を明示しているものと結論出来る。

C. 塩縮抑制物質, Glucose 並びに Creatinine のセロファン膜透析速度の比較

透析膜孔を出来るだけ同一にする為に以上三

種の透析には同一のセロファン膜嚢を用いた。

100mg% の Glucose 溶液 5cc を一定のセロファン膜嚢に入れ 700cc の 0.7% NaCl 液を外液として透析し時間を追ってセロファン膜嚢内の Glucose 量を定量した。成績は第 3 表に示す。

第 3 表

室温	透析時間 (分)	mg% of Glucose
23°C	0	100
	5	95
	10	88.5
	20	77.2
	40	54.0
	60	31.5
	120	15.5
	180	6.3

ついでそのセロファン膜を十分に洗った後、100mg% Creatinine 溶液 5cc を入れ同じく 700cc の 0.7% NaCl 液を外液として透析し、セロファン膜嚢内の Creatinine の濃度の減少を逐時的に定量した。成績は第 4 表に示す。

第 4 表

室温	透析時間 (分)	mg% of Creatinine
23°C	0	100
	5	93
	10	86
	20	72.5
	40	40.8
	60	34.5
	120	13.3
	180	5.4

次で同じセロファン膜嚢をよく洗った後次の如き実験を行った。

同一食用蛙の左右の縫工筋を剔出し左側を 5cc の 0.7% NaCl を充した前記のセロファン膜嚢に投じ塩縮が停止した後これを 700cc の 0.7% NaCl 液を外液として透析を試み抑制物質が透析される結果塩縮が再現する迄の時間を判定した。一方右側の同名筋も 5cc の 0.7% NaCl 液中に投じ塩縮が停止した後に、これに新しい 0.7% NaCl 液を添加し抑制物質が稀釈される結果塩縮が再現するに必要な塩水の添加量を測定した。これ等の成績は第 5 表及び第 6 表に示した。

第5表

実験例	室温 (°C)	塩縮再現に要した時間	再現した塩縮の持続時間 (時)
1	27	21'	1<
2	27	24'	1<
3	29	32'	1<
4	32	29'	1<
平均		26'30"	

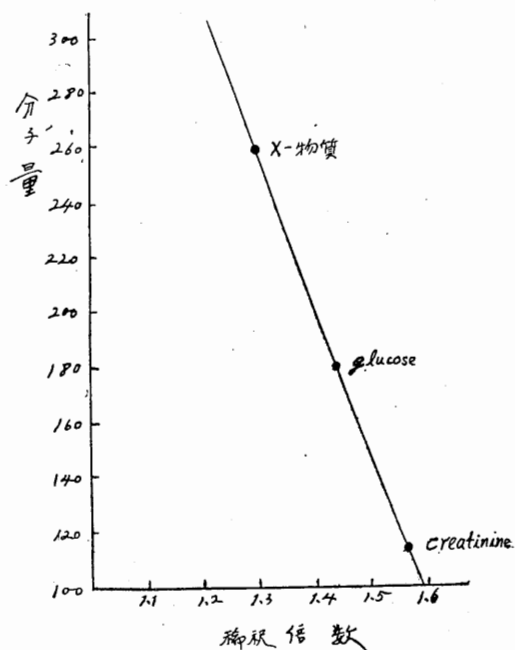
第6表

実験例	室温 (°C)	加えられた新しい 0.7% NaCl (cc)	再現した塩縮の持続時間 (時)
1	27	1.0	1<
2	27	1.5	1<
3	39	2.0	1<
4	32	1.5	1<
平均		1.5	

第6表の成績により塩縮抑制物質の濃度は塩縮を抑制するに必要な同濃度の何倍であったかが決定される。即ち4例の成績を平均するならば5ccの塩縮外液に1.5ccの0.7% NaCl液を加えるならば(1.3倍に稀釈)塩縮が再現する。

塩縮に対する左右同名筋の酷似した反応性に基き第5表に記載した透析実験に於てもセロファン膜囊内の塩縮外液の濃度が1.3倍に稀釈された時に、その実験に於ても塩縮が再現したものと解される。この為に必要な時間は4例の平均に於て26.5分である。

然るに第3表並びに第4表の成績に示された如く1.3倍に Glucose 及び Creatinine が稀釈されるに要する時間は Creatinine は18.5分 Glucose は20分を要するものと計算される。従って塩縮抑制物質の分子量は Creatinine 及び Glucose より若干大きいものと考えられる。更に塩縮抑制物質の分子量を推定する為には透析初期の攪乱を除外する為に若干の便法を講じて26.5分後に於ける各々の稀釈度を測定するならば塩縮抑制物質が1.3倍なのに反し Glucose は1.44倍に Creatinine は1.56倍となっている。この稀釈度が各々の分子量に直線的に比例するものとみなし、第1図に示す如く抑制物質の分子量を外挿するならば258と云う値を示す。即ち透析速度と分子量が直線関係を示すものと考えらるならば抑制物質の分子量は260近傍のものと考えられる。



第1図

III. Columnchromatogram に依る塩縮抑制物質の検討

著者はセロファン膜透析に依り塩縮抑制物質の分子量の測定を試み260近傍の推定値を得た。かかる分子量を有する有機物質の各種溶媒に対する親和性並びにpHと荷電との関係、吸着能力等を追究し合せて抑制物質が幾許の有効分屑から成り立つかと云う問題、更に究極的にはその分子量を別の角度から再検討する事を試みて Columnchromatogram に依る分析を行った。

A. 塩縮抑制物質は活性酸化アルミニウムに吸着させる

16倍に稀釈するも尙対照液に比して塩縮抑制能力を持つ塩縮外液を牟田⁵⁾の方法に依って筋煮沸に依り製しこれを原液として使用した。以後原液と記載した場合は斯の如き塩縮外液を意味する。この性質及び抑制能力は第7表に示した。

この原液50ccに活性酸化アルミニウム(関東化学の一級活性酸化アルミニウム)50gをフラスコに入れ30分室温に放置し時々振盪する。

第7表

性 状	pH	% of NaCl	% of T. Prot	mg% of Ca	mg% of K	稀 積 度	原液	2 倍	4 倍 (分)	8 倍 (分)	16倍 (分)	32倍 (時)	64倍 (時)
	6.9	0.65	0.485	4.2	68.3	1	6'05"	9'05"	16	26	88	2<	2<
						2	9'40"	9'45"	9	28	120	2<	2<
						3	6'05"	8'10"	18	20	118	2<	2<
						4	9'40"	9'05"	16	26	81	2<	2<
						5	4'	9'45"	9	28	104	2<	2<
						6		9'	18	30	46	2<	2<
						7		19'	16	42	121	2<	
						8		5'	13	37	39	2<	
						9		19'	13	36	92		
						10			28	77	70		
						11			16	108			
						12			45	28			
						13			46	13			
						14			25	12			
						15			11	66			
						16			4				
平均						6.8'	10.8'	19.5	40.3	87.9	2<	2<	

後遠沈し上澄の NaCl 量を測定して補正したものを対照の原液と共に 0.7% NaCl 液を以て倍数稀釈し、両液についての塩縮抑制力を比較した。成績は第8表の第1例、第2例及び第3例に示した。

第8表

室温 (°C)	実験 例	溶 液	稀 釈 度	塩 縮 時 間					
				0倍 (分)	2倍 (分)	4倍 (分)	8倍 (分)	16倍 (分)	32倍 (時)
24	1	原液	6	9	18	30	81	2<	
		試験液	7	9	33	85	120<	2<	
22	2	原液	9	18	29	81	2<		
		試験液	9	33	85	120	2<		
22	3	原液	8	18	20	88	2<		
		試験液	10	47	73	120<	2<		
25	4	原液	16	42	104	2<			
		試験液	120<	120<	120	2<			
24	5	原液	20	46	49	2<			
		試験液	73	120<	120<	2<			

塩縮時間は原液及び試験液の4倍乃至16倍稀釈に於て明瞭な差異を示している。又同表の第4例及び第5例に示したものは濃厚塩縮外液を活性酸化アルミニウムのカラムを通過させたものであるが、通過液の塩縮抑制能力は減退する。即ち塩縮抑制物質は吸着されるものと考えられる。

B. 塩縮抑制物質の活性酸化アルミニウム吸着は水溶液の pH に無関係である

3つの試験管に各々20gの活性酸化アルミ

ウムに 20cc の4倍稀釈原液を加え、その pH を N/10 HCl 又は N/10 NaOH で 9.0, 6.0, 4.0 とし2時間時々振りながら放置し後遠沈濾過する。

この間 pH は時々検べそれぞれ所定の pH に固定する。後濾液の pH は 7.0 に補正し、NaCl の濃度も又 0.7% に補正し各濾液の塩縮抑制能力を塩縮時間から測定した。成績は第9表に示す。

第9表

室温	溶媒のpH	塩縮持続時間(分)	
		第1例	第2例
24°C	9.0	51	38
	4.0	39	61
	6.0	47	58
対照4倍稀釈原液		19.5	

即ち何れの pH に於ても吸着の程度に有意の差は認められなかった。塩縮抑制物質が pH に無関係に吸着されると云う事は塩縮抑制物質に遊離の NH₂ 基又は COOH 基等極性の強い基が存在しない事を恐らくはしめすものと解される。

C. 吸着抑制物質の溶出条件

原液を活性酸化アルミニウムを通じ、次で多量の 0.7% NaCl 液で洗った後吸着剤を取出し

よく乾燥する。その一定量を第10表の如く種々の pH の NaCl 液又は Alcohol 中に投じ 2 時間溶出する。その間 pH は常に定められた如く保つ。後遠沈濾過する。濾液が Alcohol の時は蒸発乾燥後同量の 0.7% NaCl 液に溶解させる。その溶液につき各々抑制作用を検した。成績は第10表に示す。

第10表

室温 (°C)	実験例	溶出液の pH	塩縮時間
24	1	(pH 9.0) 0.7% NaCl	37'
		(pH 6.9) "	21'
		(pH 4.0) "	34'
24	2	(pH 9.0) Alcohol	1'21'
		(pH 6.0) "	2'<
		(pH 4.0) "	2'<

即ち pH の如何にかかわらず塩縮抑制物質は生理的食塩水中には溶出されるが Alcohol は殆んど溶出しない。従って塩縮抑制物質は強度の極性を有する溶液にのみ移行するものの如く思われる。

D. Columnchromatogram に吸着された抑制物質は浄水又は生理的食塩水に依つては展開されない

2cm 直径のガラス管に活性酸化アルミニウム

を 15cm の高さにつめ、原液又は 4 倍稀釈原液を入れ次で 45cc の水で展開しカラムを通過した液の塩縮抑制能力を定量する。次でアルミナカラムをガラス管から静かに押出しこれを 4 等分し各々を一定量の水で 2 時間溶出、後遠沈濾過し NaCl の濃度及び pH を補正する。この液につき塩縮抑制能力を検らば第11表に示した。

即ちカラム濾過液並びにカラム下 3/4 の部分からは殆んど塩縮抑制物質を検出し得ないがカラムの上 1/4 の部分からは塩縮抑制物質の存在を明らかに証明し得た。即ち塩酸抑制物質はカラムの上 1/4 に吸着され水に依つては展開されないものと見られる。

同上の実験に於て水の代りに生理的食塩水を用いた実験に於てもほぼ同様の成績を証明し得た。成績は第12表に示した。

即ちこの場合にも塩縮抑制物質は最上層に吸着され、他の層には殆んど見出し得なかった。

E. 吸着された抑制物質は高濃度食塩水に依つて展開される

上述の諸性質から示される様に、塩縮抑制物

質は無極性溶媒よりは極性溶液にたいして親和性が強い。しかるに Columnchromatogram に於ては極性の低い溶媒に依つて吸着させ、より極性の強い溶媒に依つて展開させることが原則である。従って著者は濃厚食塩水に依る展開を試みた。カラムの大きさ並びに分割は前項に準ずる。成績は第13表に示した。

即ち生理的食塩水にて展開する場

第11表

室温 (°C)	実験例	通過量 (cc)	溶出量 (cc)	濾出液 (時)	塩縮時間				註
					最上層 (分)	第2層 (分)	第3層 (時)	最上層 (時)	
24	1	12.5	11.9	2<	44	120<	2<	2<	原液使用
25	2	15	11.25	2<	52	120<	2<	2<	"
24	3	10.5	12.4	2<	51	84	2<	2<	4 倍稀釈
24	4	16.0	11.0	2<	63	118	2<	2<	"

註：原液使用は原液の 5cc を 45cc の H₂O で展開、4 倍稀釈は原液 15cc に 45cc の H₂O を加えた後に展開

第12表

室温 (°C)	実験例	通過量 (cc)	溶出量 (cc)	濾出液 (時)	塩縮時間				註
					最上層 (分)	第2層 (分)	第3層 (時)	最下層 (時)	
24	1	65	13.75	2<	31	87	2<	2<	(1)
24	2	60	15.	2<	37	120<	2<	2<	"
25	3	8.5	12.88	2<	26	120<	2<	2<	(2)
24	4	13	11.8	2<	34	120<	2<	2<	"
24	5	14	11.5	2<	28	114	2<	2<	"
25	6	9.3	12.67	2<	46.3	118	2<	2<	(3)
24	7	10.5	12.37	2<	37	120<	2<	2<	"

註：(1) 原液の 5cc を通した後 105cc の 0.7% NaCl 液で展開

(2) " 45cc "

(3) 原液の 5cc に 45cc の 0.7% NaCl を加えた液を通す

第13表

室温 (°C)	実験例	通過量 (cc)	溶出量 (cc)	塩縮時間					註
				濾出液 (分)	最上層 (分)	第2層 (分)	第3層 (分)	最下層 (分)	
25	1	7.8	9.3	120<	55	29	120<	120<	(1)
24	2	9.2	8.9	120<	44	33	97	120<	"
24	3	24	9	120<	120<	120<	52	61	(2)
25	4	25	8.75	120<	120<	120<	79	34	"
24	5	25	8.75	120<	120<	120<	88	33	"
24	6	24	9.0	118	120<	120<	81	53	"
24	7	18	10.5	120<	88	107	87	120<	"

註：(1) 15cc の原液を通した後 30cc の 2.8% NaCl にて展開

(2) " 後 45cc "

合はカラムの最上層に吸着された塩縮抑制物質が 2.8% NaCl 液で展開する事に依り吸着層が下方に移動する。即ち第1例及び第2例に見られた如く 30cc の濃厚食塩水で展開した場合には第2層又は第3層に移動し、45cc の濃厚食塩水で展開した場合には第3層においては第3層に、第4例から第5例には第3層および第4層（特に第4層に強し）に移動し、第7例に於ては最上層より第3層に渡って抑制物質が分布している。

以上の成績に依り濃厚食塩水にて展開する場合には塩縮抑制物質は次第に下方に移動される事が明らかとなった。且つ大多数の例に於て塩縮抑制物質は展開後も主として特定の吸着層に位置している事実に基き、抑制物質を幾つかの有効物質に分離する事は不成功に終わった。恐らくはこの物質は単一のものと予想される。

F. Columnchromatogram より見たる抑制物質の分子量の推定

1) 抑制物質並びに他の諸種物質の吸着並びに浄水展開の成績の比較

塩縮抑制物質を活性化アルミニウム柱内に水又は生理的食塩水

にて展開する場合に

は最上層に位置する

事は既に述べた。従

って塩縮抑制物質と

極性を全く同じくし

濃厚食塩水に依って

のみ展開される物質

室温 溶液の種類
(°C)

室温 (°C)	溶液の種類	各種溶質の溶出水へ溶出された%				
		濾出液 (%)	最上層 (%)	第2層 (%)	第3層 (%)	最下層 (%)
24	100mg% of Glucose	0.3	37.2	35.2	22.2	5.06
24	100mg% of Creatinine	96.4	0.07	0.27	0.31	0.36
24	100mg% of Urea	99.1				
25	100mg% of Neutral Red	0.73	72	0.329	0.329	0.329
24	100mg% of Phenol		52.5	10.3	4.1	

註 溶出水中へ出された%及び濾出液の%を加えて 100 とならないのは完全に溶出されなかつた為

があれば両者の間

の分子量の関係が

ほぼ推定し得る事

も又可能である。

かかる意味から

著者は抑制物質と

分子量の差がな

いとおもわれる。

Glucose及びCrea-

tinine 其他数種の

物質の Column-

chromatogram 展開を試み抑制物質のそれと比較した。

第14表に示す如く吸着操作並びに浄水展開に依って得た成績は各物質に依り著しく異なる。即ち Glucose は最上層及び第2層にその70%が吸着し濾液の濃度は初期濃度の 0.3% 以下に落ちる。Creatinine はこれに反し同一の条件では殆んど吸着される事がない。更に同表に示す如く尿素は同一条件では殆んど吸着されぬ。Neutral Red はその大部分が最上層に吸着されその他の層及び濾出液には極めて微量しか検出されぬ。Phenol も又ほぼ同様の成績である。

2) 抑制物質並びに他の諸種物質の高濃度食塩水の展開の比較

塩縮抑制物質は高濃度食塩水に依って明らかに展開された。そこで第15表に示す如く 2, 3 の物質の高濃度食塩水に依る展開を試みた。その成績を検討し抑制物質のそれと比較した。Glucose は第3層に主として移動し、又幾らかは第4層にも移動した。Phenol はこれに反し殆んど完全に濾出液へと移動した。

従って濃厚食塩水展開に依っては塩縮抑制物

第14表

各種溶質の溶出水へ溶出された%

濾出液 (%)	最上層 (%)	第2層 (%)	第3層 (%)	最下層 (%)
0.3	37.2	35.2	22.2	5.06
96.4	0.07	0.27	0.31	0.36
99.1				
0.73	72	0.329	0.329	0.329
	52.5	10.3	4.1	

第15表

各種溶質の溶出水へ溶出された% (原液を100%とする)

室温 (°C)	溶液の種類	実験例	濾出液 (%)	最上層 (%)	第2層 (%)	第3層 (%)	最下層 (%)
24	100mg% of Glucose	1		0.07	5.55	54.71	9.0
24	"	2	4.1		9.69	25.07	26.55
25	"	3			7.3	32.4	14.07
24	100mg% of Phenol	1	98.9				±
24		2	93.				±
24		3	99.				

註 各層及び濾出液を加えたものが100 にならなかったのは水に十分に溶出されなかった為

phenal の土は 1:10000 陽性の Brom water による定性試験の成績である

質は Glucose と極めて類似の展開を示すものである。即ち浄水展開においては塩縮抑制物質は Glucose, Neutral Red, 及び Phenol の3者と類似した展開を示すものであり濃厚食塩水展開に於ては塩縮抑制物質は Glucose とは極めて類似の反応を示すが Phenal はやや異った展開を示して居る。

従って塩縮抑制物質は Glucose と類似の極性を有するものと予想される。然るに極性の同じ溶質の Columnchromatogram 展開に於ては展開速度は分子量にほぼ逆比例するものとみなされている。従って塩縮抑制物質と Glucose が同様の展開操作で大体同じ層に吸着されると云う事実は両者の間の分子量に著しい差がない事を示すものと解される。

IV. 考 察

著者は塩縮抑制物質の透析速度を Glucose 及び Creatinine のそれと比較し抑制物質の透析速度が他の2つのものよりやや遅い事より、その分子量は Glucose 及び Creatinine より若干大きいものである事を指摘した。

然し乍らこれ等3者の透析速度は著しく異なるものではないからそれぞれの透析速度が分子量の逆数に直線的に比例するものとの近似を設定し抑制物質の分子量を外挿に依って求め258と云う値を得た。この値は概算的なものではあるが抑制物質の分子量と著しく異なるものとは考えにくい。

然し乍ら抑制物質の荷電又は極性が Creati-

nine 乃至 Glucose と著しく異なる場合にはその推定値はその信頼度が著しく低下するものである。

抑制物質の極性を Glucose, Creatinine 等の物質と比較検討し上述の吟味をおこなう為に著者は Columnchromatogram に依る分析を試みた。

Columnchromatogram

に依る分析に依り抑制物質は高度の極性溶媒にのみよく溶解される事が示された。更に活性酸化アルミニウムに対する吸着は pH に殆んど依存しなかった。

更に又浄水展開並びに高濃度食塩水展開に於て抑制物質は Glucose と酷似した性質を有する事を示したが Phenal は浄水展開に於てのみ抑制物質と類似の反応を示した。これ等の諸成績に基き抑制物質は遊離の NH_2 基或いは COOH 基を含むものではなくその極性が Glucose に類似したものである事を示すものである。従って頭初に述べた透析速度実験に於て Glucose との比較に於ける実験は1つの安全な保証を得た。即ち抑制物質と Glucose の間では成立するものである事を物語っている。故に抑制物質の分子量は透析実験に於てもまた Columnchromatogram に於ける実験に於ても Glucose と著しく異なるのではなく既に述べた如くそれを若干上廻る値を想定する事が出来よう。

最後に残る問題はかかる極性乃至分子量を有する抑制物質は如何なる化学構造を有するかと云う事である。有機溶媒に難溶である事と遊離の NH_2 基 COOH 基を有しない事, Phenal と極性を異にし Glucose と極性を同じくする事等の事実から著者は抑制物質が OH 基を有し芳香族に属せざる鎖状又は環状化合物である可能性を考えるものである。

V. 結 論

1) 塩縮抑制物質のセロファン膜透析速度を

Glucose, Creatinine と比較し抑制物質の透析速度は他の2者より若干遅い事を確めた。求むる物質を極性なきものとしてその分子量を推定すると200~300の値を示すものと想定される。

2) 塩縮抑制物質は活性酸化アルミニウムに吸着する。

3) Columnchromatogram で分析すると生理的食塩水中に溶解した塩縮抑制物質は吸着剤中の最上層に吸着され食塩水に対する再溶出溶媒が Alcohol である場合 pH の如何に拘らず抑制物質は Alcohol に移行しない。

4) カラムに吸着された抑制物質は高濃度食塩水に依りよく展開される。展開像からは抑制物質が単一の物質である事が示唆される。

5) Columnchromatogram に於ける浄水展開ならびに高濃度食塩水展開に於て抑制物質は Glucose と極めて類似した反応を示す。従って Glucose と抑制物質は極性も類似し分子量も甚

だしく異なるものではないと考えられる。従って抑制物質の分子量を200~300と推定する根拠が十分に存在する。

摺筆に当り加藤教授の御鞭撻と、林教授、岡本講師の御指導並に御校閲に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) Bonsnes and Taussky (1945) On the Colorimetric determination of Creatinine by the Jaffe reaction. *J. Biol. Chem.* 158, 581
- 2) Folin, O. (1929) Two revised Copper methods for Blood Sugar Determination. *J. Biol. Chem.* 82, 83
- 3) 菊地録二 (1949) 塩縮外液の塩縮抑制物質について *日本生理誌* 12, 359
- 4) Mines, G. (1908) Contraction of skeletal muscles. *J. Physiol.* 37, 408
- 5) 牟田信大 (1951) 塩縮外液の塩縮抑制作用と Ca 量との関係に就いて (慶応医学に掲載の予定)
- 6) 西山信雄 (1950) 骨骼筋の塩縮抑制物質について *日本生理誌* 12, 356
- 7) Shales and Shales (1941) A simple and accurate method for the determination of chloride in biological fluids, *J. Biol. Chem.* 140, 879

Summary

It is known that the spontaneous rhythmic contractions of skeletal muscle in saline solution, without calcium (named salt contraction in our laboratory), ceases without loss of contractility, after a certain hour. And according to Nishiyama, after the cessation of it the solution would have inhibiting effect upon the salt contraction of other fresh muscle. This inhibitory substance is not Ca., Mg., nor any other inorganic substance, but some thermostable organic substance.

The author intended to guess the molecular weight of this agent through an indirect method, because its purification has not been successful yet.

1) Determination of dialysing velocity through a semi-permeable membrane. The author determined the dialysing velocity of this substance, measuring its inhibitory effect of the inside fluid of cellophane membrane which contained a muscle after a certain hours, dialysation by 140 fold of the outside saline solution. The inhibitory effect of the inside solution disappeared by the dialysis after 26.5 minutes, being diluted to 77 %. As the dialysis velocity of a dissolved substance depends on its molecular weight, the author, comparing with the time required for dialysis of glucose and creatinine to the same %, calculated the molecular weight of this substance as about 250~300, without regarding the differences of polarity of each substance.

2) Columnchromatographic studies. Active aluminium oxide was used as adsorbent. 2 cm. diameter, and 30 cm. glass tube was used.

The inhibitory substance in physiological salt solution was adsorbed in the upper part of the column and was not developed by water or physiological saline solution. Only developed by a higher concentration of sodium chloride solution, to the lowest part of the tube.

Columnchromatographic behavior of the inhibitory substance was quite similar to glucose, but not to creatinine, urea, neutral red, and phenol. These results indicated that polarity of the substance and glucose would be in the same order. Accordingly the former calculation of molecular weight of the inhibitory substance would be justifiable.

(Department of Physiology, Keio-gijuku University School of Medicine, Tokyo)

塩縮外液の全蛋白質量及び全 Amino 酸窒素量について 612. 744. 24

Measurement of Total Protein and Amino Acid Nitrogen in the Fluid after the Salt Contraction.

川 島 悦 子 (KAWASHIMA-Etsuko)*

I. 序 論

生理的食塩水に浸した骨骼筋がしばらくの間 rhythm ある収縮を繰返す事は古くから知られて居た。西山⁴⁾等はこれを塩縮と名付けこの筋収縮起原につきいろいろの研究が以後なされて居る。特に著しい研究はかかる収縮が一定時間後に終焉するのは筋自体に原因があるのではなくその外液中に塩縮抑制物質が生成される為であると云う事である。かかる塩縮抑制物質につき牟田⁵⁾はこれが Ca-ion では無い事を明らかにしたが、著者は塩縮抑制物質が或種の蛋白質又は amino 酸に依るものでは無いかと考え以下の実験を行った。

II. 実験方法

筋標本としては藁の縫工筋をもちい塩縮は常法に依って観察した。塩縮外液の全蛋白質は Biuret²⁾の方法を用い、amino 酸窒素は Danielson 及び Hoffman¹⁾の方法を用い定量した。

III. 塩縮外液の全蛋白質の測定

藁の縫工筋を取出し一侧を等滲透圧の NaCl, NaJ, NaBr, 及び CaCl₂ 溶液に浸す。対照として他側を夫々 Ringer 氏液に浸す。CaCl₂ 溶液に浸した場合を除いた他の液に於てはすべて塩縮が見られたのでその時間を観察し対照液中には同時間筋を浸して置いた。CaCl₂ 溶液の場合には試験液にも対照液にも筋の収縮は認めないがこれには筋を5時間浸した。一定時間の後に筋を取出し後、外液につき各々全蛋白質を定量した。成績は第1表より第4表に示す。

すべての塩縮外液即ち等圧 NaCl, NaJ, NaBr

第1表

No.	室 温 (°C)	溶 液	塩縮持続時間 (又は浸筋時間)	第二次塩縮	Total Protein (mg%)
1	19	0.7% NaCl	8°30'	+	25.0
	19	Ringer's sol.	"	+	20.0
2	24	0.7% NaCl	7°10'	+	21.3
	24	Ringer's sol.	"	+	27.8
3	24	0.7% NaCl	5°10'	+	16.0
	24	Ringer's sol.	"	+	12.8
4	24	0.7% NaCl	6°50'	+	19.2
	24	Ringer's sol.	"	+	19.6
5	22	0.7% NaCl	9°25'	+	17.0
	22	Ringer's sol.	"	+	26.0
6	17	0.7% NaCl	8°30'	+	9.6
	17	Ringer's sol.	"	+	12.8
7	20	0.7% NaCl	7°20'	+	23.0
	20	Ringer's sol.	"	+	21.0
8	24	0.7% NaCl	9°30'	+	13.1
	24	Ringer's sol.	"	+	12.5
平均		0.7% NaCl			28.84
均		Ringer's sol.			30.54

第2表

室 温 (°C)	溶 液	塩縮持続時間 (又は浸筋時間)	第二次塩縮	Total Protein (mg%)
19	1.96% NaJ	8°10'	+	34.5
19	Ringer's sol.	"	+	28.0
24	1.96% NaJ	7°35'	+	27.0
24	Ringer's sol.	"	+	21.0
24	1.96% NaJ	4°40'	+	38.4
24	Ringer's sol.	"	+	42.2
21	1.96% NaJ	6°50'	+	29.0
21	Ringer's sol.	"	+	24.8
20	1.96% NaJ	8°30'	+	19.0
20	Ringer's sol.	"	+	17.2
平均		1.96% NaJ		29.58
均		Ringer's sol.		26.64

で塩縮を起したものの含む全蛋白質量と対照液即ち Ringer 氏液、又は試験 CaCl₂ 外液の全蛋白質量を比較して見ると有意の差は認められなかった。

IV. 外液全蛋白質量と塩縮抑制作用との関係について

前の実験に於て明らかな如く塩縮外液中には

* 慶応義塾大学医学部生理学教室

第3表

室温 (°C)	溶 液	塩縮持続時間 (又は浸筋時間)	第二次 塩縮	Total Protein (mg%)
19	1.38% NaBr	8'50'	+	30.5
19	Ringer's sol.	"	+	36.0
24	1.38% NaBr	9'15'	+	26.5
24	Ringer's sol.	"	+	22.0
24	1.38% NaBr	9'05'	+	19.2
24	Ringer's sol.	"	+	19.2
22	1.38% NaBr	8'20'	+	29.5
22	Ringer's sol.	"	+	24.0
20	1.38% NaBr	9'00'	+	26.6
20	Ringer's sol.	"	+	22.2
平均	1.38% NaBr			26.46
均	Ringer's sol.			24.68

第4表

室温 (°C)	溶 液	浸筋時間	第二次 塩縮	Total Protein (mg%)
20	1.08% CaCl ₂	5'00'	—	17.0
20	Ringer's sol.	"	弱	14.0
19	1.08% CaCl ₂	"	—	10.0
19	Ringer's sol.	"	+	17.0
21	1.08% CaCl ₂	"	—	19.2
21	Ringer's sol.	"	+	16.0
21	1.08% CaCl ₂	"	—	33.2
21	Ringer's sol.	"	+	22.8
24	1.08% CaCl ₂	"	—	4.13
24	Ringer's sol.	"	弱	4.95
平均	1.08% CaCl ₂			16.706
均	Ringer's sol.			14.95

約 25mg% 内外の全蛋白質が含まれるが、Ringer 氏液又は CaCl₂ 液に筋を浸した場合にもほぼ同量の全蛋白質が含まれる事より塩縮抑制能力は全蛋白質量に左右されると云う可能性は除かれた。然しそれを更に確める為に以下の実験を行った。

藁の縫工筋を取出し、4個、3個、2個、1個を各々 5cc の 0.7%NaCl 溶液にて 5 分間煮沸した後 1 時間室温に放置、後遠沈濾過し、その濾液を用いた。即ち煮沸に依って得た液中には蛋白質が多量に含まれる事は知られて居るが又同時に塩縮抑制物質も含まれる事は牟田³⁾に依って明らかにされて居る。

次で藁の縫工筋を別出し各液中に於ける塩縮持続時間を測り対照には 0.7%NaCl 液に於ける 4 例の塩縮時間を測り平均した。塩縮終了後、外液の全蛋白質を各々測定し成績を第5表及び

第5表

No.	室温 (°C)	溶 液	塩 縮 時 間	Total Protein (mg %)
1	23	筋 4 個煮沸外液	4'15"	275.8
		3 個 "	4'50"	166.6
		2 個 "	8'30"	108.5
		1 個 "	12'10"	62.8
		1 個の 1.25 倍稀釈	50'00"	50.2
		1 個の 1.66 倍	4'07"	37.7
		1 個の 2.5 倍	6'22"	25.1
		1 個の 5.0 倍	6'41"	12.6
		対照	10'00'	20.9
2	23	筋 4 個の煮沸外液	5'00"	188.7
		3 個 "	7'30"	146.3
		2 個 "	9'00"	99.3
		1 個 "	22'00"	72.4
		1 個の 1.25 倍稀釈	2'58"	56.9
		1 個の 1.66 倍	5'00"	42.6
		1 個の 2.5 倍	7'08"	29.3
		1 個の 5.0 倍	9'12"	15.4
		対照	12'40'	27.1

第6表

3	23	筋 4 個の煮沸外液	1'07"	191.8
		3 個 "	2'10"	153.0
		2 個 "	5'00"	107.8
		1 個 "	1'52"	61.7
		1 個の 1.25 倍稀釈	2'07"	49.4
		1 個の 1.96 倍	5'10'	36.02
		1 個の 2.5 倍	6'22'	24.7
		1 個の 5.0 倍	6'09'	12.3
		対照	8'40'	18.1
4	23	筋 4 個の煮沸外液	4'30"	207.8
		3 個 "	4'40"	162.4
		2 個 "	21'00"	92.0
		1 個 "	24'00"	77.0
		1 個の 1.25 倍稀釈	4'10"	61.6
		1 個の 1.66 倍	5'50'	46.2
		1 個の 2.5 倍	5'20'	30.8
		1 個の 5.0 倍	6'07'	15.4
		対照	9'00'	19.4

第6表に示した。

1 乃至 4 の実験例を通じ筋を 1 個から 4 個迄煮沸したものはすべて多量の全蛋白質を含み、同時に塩縮を強度に抑制した。然し乍ら 1 個の抽出液は 1.66 倍以上に薄めたものは、1 例から 4 例迄 37.7mg%, 42.6mg%, 36.02mg%, 46.2mg% と云う様に対照液より遙かに多量の全蛋白質を含んで居るのに拘らず筋は何れも 4 時間以上塩縮を続けた。更に明らかな事は 1 個の抽出液の 5 倍稀釈液は 4 例を通じて何れも対照液より少量の全蛋白質を含むに拘らずその塩縮時間は何れも対照液の塩縮時間より遙かに短かった。この事は塩縮抑制作用は全蛋白質量と比例しないという事を物語るものである。

V. 塩縮抑制物質と amino 酸窒素について

以上の実験に依つて塩縮抑制能力は全蛋白質量と比例しない。そこで著者は塩縮抑制物質の生成が amino 酸に比例するものではないかと考え以下の実験を行つた。

蟾の縫工筋を取出し一側を 0.7% NaCl 溶液に浸し、塩縮時間を観察した。対照として他側の筋を同時間 Ringer 氏液に浸した。次で外液の amino 酸窒素を定量し第 7 表に示した。

第 7 表

室温 (°C)	溶 液	塩縮 時間	第2次 塩 縮	Amino acid nitrogen (mg %)
24	0.7% NaCl	8'40'	+	2.273
24	Ringer's sol.	〃	+	2.67
24	0.7% NaCl	8'55'	+	2.66
24	Ringer's sol.	〃	+	2.604
24	0.7% NaCl	9'00'	+	2.87
24	Ringer's sol.	〃	+	2.993
25	0.7% NaCl	8'05'	+	3.025
25	Ringer's sol.	〃	+	3.259
25	0.7% NaCl	9'40'	+	3.1
25	Ringer's sol.	〃	+	3.4
平均	0.7% NaCl			2.7856
	Ringer's sol.			2.9852

即ち 5 例を通じ塩縮外液と Ringer 氏液との間に於て amino 酸窒素に有意の差は認められなかった。

VI. 考 察

著者は塩縮抑制物質が蛋白質又は amino 酸に属する物質ではあるまいかと云う考えから塩縮外液の全蛋白質及び amino 酸窒素と塩縮抑制効果との相関にきつ検討を試みた。

然し乍ら種々の陰 ion の Na 塩溶液に於ける塩縮外液、或いは外液の稀釈液の各種の系列につき全蛋白質量を測定し塩縮抑制効果との関連を検討してそこに何等の相関関係の無い事を見出した。従つて塩縮外液の抑制効果が介在する全蛋白濃度に左右されると云う可能性は除かれた。然し乍ら著者の測定した塩縮外液の蛋白質は恐らくは数多くの蛋白質分層から成るもので

あるからそれ等の中に含まれる微量の蛋白質が抑制効果を持つと云う可能性は今尙除外出来ない。然し乍らこれ等の検討は技術的に殆んど困難な事と考えられる。

一方抑制物質は熱に強いと云う事実は著者の見解と一致するものである。従つて特殊蛋白質が抑制物質である可能性も又否定されよう。尙蛋白質が膠質効果として塩縮を抑制する場合には耐熱性であろうが著者の実験はこの可能性は全く除くものであろう。又塩縮外液の抑制能力と全 amino 酸窒素系との間にも如何なる相関関係も見出されなかった。この事は特殊な微量な amino 酸が塩縮抑制に関与すると云う可能性を除外するものでは無いが、amino 酸が非特異的に塩縮を抑制すると云う可能性を否定するものであろう。

VII. 結 論

1. 種々の ion の Na 塩水溶液に於ける塩縮外液、或いは煮沸液の種々の稀釈度の塩縮抑制能力と全蛋白質量とは如何なる型の相関も示さない。

2. 塩縮外液の全 amino 酸窒素量と塩縮抑制能力とは如何なる型の相関も示さない。

摺筆に当り、加藤教授の御鞭撻と、林教授・岡本講師の御指導並に御校閲に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) Danielson, I. S. and Hoffman (1933) Amino acid nitrogen in blood and its determination. J. Biol. Chem. 101. 505
- 2) Gornall, A. G., C. G. Bardawill and M. M. David (1949) Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem. 177. 751
- 3) 牟田信大 (1951) 塩縮外液の塩縮抑制作用と Ca 量の関係について (慶応医学に掲載の予定)
- 4) 西山信雄 (1950) 骨格筋の塩縮抑制物質について 日本生理誌 12. 356

Summary

Muscle from a frog makes rhythmical contractions, called salt contractions, in isotonic salt solution.

After certain periods of time these contractions ceased and during this period certain substances were given off into the fluid from the muscle, which inhibits the salt contractions.

After the cessation of these contractions, I measured the total protein and amino acid nitrogen of the fluid, which was made isotonic by NaCl, NaJ., and NaBr.

Making a control experiment by Ringer solution or isotonic CaCl_2 solution, I found that the total protein and amino acid nitrogen had no difference between the experimented fluid and the control fluid.

Results of the second experiment showed that the fluid which contained higher concentrations of protein had no inhibiting action than the ordinary one. I have come to the conclusion that the soluble proteins or amino-acid nitrogen was not the so called inhibiting substance for salt contractions.

(Department of Physiology, Keio-gijuku University School of Medicine, Tokyo)

温度に依る塩縮の有無と外液の 全蛋白質量及び Amino 酸窒素量について 612.744.24:536.5

Measurement of Tatal Protein and Amino Acid Nitrogen of the Fluid, in which after the Salt Contraction Ceased, Comparing after the Equivalent Immersion Time, in which the Salt Contractions were Inhibited by Low Temperature.

川 島 悦 子 (KAWASHIMA-Etsuko) *

I. 序 論

冷血動物の骨骼筋を等滲透圧の食塩水に浸すと rhythm ある収縮を起す事は1800年代から知られて居る。この現象につき我教室では種々の研究が行われて居るが西山⁴⁾ 菊地³⁾ 等は塩縮と名付けられたこの現象は一定時間が経過すると止るがこの筋を新しい等滲透圧の食塩水に入ると再び塩縮を起し、他方新しい筋を始めの塩縮外液に入ると塩縮を抑制する事を見出した。この事より塩縮外液中には抑制物質が生成されるものと考えられる。この物質につき更に研究が行われて居るが、菊地はこれが特殊な有機物質である事を明らかにした。別に著者は塩縮抑制物質と蛋白質及び amino 酸との間に関係が無い事を明らかにしたが以下低温度その他に依る関係を追究した。

II. 実 験 方 法

標本は墓の縫工筋を剔出して用いた。蛋白質定量は Biuret²⁾ の方法に依り、amino 酸窒素は Danielson¹⁾ の方法に依る。

III. 室温に於ける塩縮外液の全蛋白質 量及び amino 酸窒素量について

剔出した墓の縫工筋の一侧を 0.7%NaCl 溶液に浸し、他側は対照の Ringer 氏液に浸す。両者を室温に 2 時間放置した後、外液の全蛋白質量及び amino 酸窒素量を定量した。成績は第 1 表及び第 2 表に示す。

即ち 0.7%NaCl 溶液にて 2 時間塩縮させた場

第 1 表

室温 (°C)	溶 液	室温放 置時間	第 2 次 塩 縮	Total Protein (mg %)
24	0.7% NaCl	2時間	+	17.4
24	Ringer's sol.	//	+	18.2
20	0.7% NaCl	//	+	14.7
20	Ringer's sol.	//	+	13.1
21	0.7% NaCl	//	+	15.3
21	Ringer's sol.	//	+	21.7
平均 (0.7%NaCl)=15.8mg%				
平均 (Ringer's sol.)=17.66mg%				

第 2 表

室温 (°C)	溶 液	室温放 置時間	第 2 次 塩 縮	Amino acid nitrogen (mg %)
24	0.7% NaCl	2時間	+	2.66
24	Ringer's sol.	//	+	3.2
26	0.7% NaCl	//	+	2.3
26	Ringer's sol.	//	+	2.2
21	0.7% NaCl	//	+	2.9
21	Ringer's sol.	//	+	3.1
平均 (0.7%NaCl)=2.62mg%				
平均 (Ringer's sol.)=2.83mg%				

合も又 Ringer 氏液に 2 時間浸して置いた場合も全蛋白質量及び amino 酸窒素量には有意の差は認められなかった。前者は 12~21mg%，後者は 2.2~3.2mg%であった。

IV. 0~4°C に保たれた塩縮の無い NaCl 溶液に於ける全蛋白質量及 び amino 酸窒素量について

前回の実験に於て 0.7%NaCl 溶液も Ringer 氏液にもほぼ同量の全蛋白質が含まれた。その実験に於て縫工筋の剔出に際しては筋及び血管の損傷は殆んどさけ得たが必ずしも血液に依る影響で無いとは云いにくい。即ち血液中には 3.0~3.7% の全窒素云いかえれば (3~3.7)×6.25 g

* 慶応義塾大学医学部生理学教室

%の全蛋白質が含まれるのでたとえ剔出した筋を試験液に浸す前に充分洗ったとしても外液の全蛋白質が血液に依るもので無いとは云い難い。そこで著者は同様の操作の下に剔出した筋を予め 0~4°C に冷却した 0.7% NaCl 溶液及び Ringer 氏液に入れ氷室に 0~4°C にて 2 時間放置した。2 時間後外液の全蛋白質量および amino 酸窒素量を定量し第 3 表及び第 4 表に示した。

第 3 表

室温 (°C)	溶 液	0~4°Cにて の冷却時間	第 2 次 塩 縮	Total protein (mg %)
26	0.7% NaCl	2時間	+	1.7
26	Ringer's sol.	"	+	2.1
26	0.7% NaCl	"	+	2.2
26	Ringer's sol.	"	+	1.9
24	0.7% NaCl	"	+	2.27
24	Ringer's sol.	"	+	2.4
21	0.7% NaCl	"	+	4.1
21	Ringer's sol.	"	+	2.9
26	0.7% NaCl	"	+	2.27
26	Ringer's sol.	"	+	2.24
26	0.7% NaCl	"	+	2.4
26	Ringer's sol.	"	+	3.5
25	0.7% NaCl	"	+	0.69
25	Ringer's sol.	"	+	1.47
平	0.7% NaCl			2.23
均	Ringer's sol.			2.36

第 4 表

室温 (°C)	溶 液	0~4°Cにて の冷却時間	第 2 次 塩 縮	Amino acid nitrogen (mg %)
20	0.7% NaCl	2時間	+	2.0524
20	Ringer's sol.	"	+	1.688
20	0.7% NaCl	"	+	1.725
20	Ringer's sol.	"	+	2.128
20	0.7% NaCl	"	+	1.82
20	Ringer's sol.	"	+	1.876
20	0.7% NaCl	"	+	2.052
20	Ringer's sol.	"	+	1.736
24	0.7% NaCl	"	+	1.865
24	Ringer's sol.	"	+	1.792
平	0.7% NaCl			1.9029
均	Ringer's sol.			1.844

この実験中筋収縮は完全に抑制されたが、室温下の状態に変える時は再び塩縮を現すものでその外液中には室温放置の場合より遙かに少量の全蛋白質が含まれるに過ぎず、又 amino 酸窒素量も少い。従って外液中の全蛋白質は単なる

血液の混入に依るものではない。

V. 凍結実験に於ける外液の全蛋白質量及び amino 酸窒素量について

0.7% NaCl 溶液及び Ringer 氏液を予め 2.0°C に冷して置き、これに剔出せる筋を入れる。両液を出来るだけ早く凍らせ次いで氷室に凍らせたまま 2 時間放置、後自然融解、その外液の全蛋白質量及び amino 酸窒素量を定量し第 5 表及び第 6 表に示した。

第 5 表

室温 (°C)	溶 液	凍結 時間	第 2 次塩縮 (3 時間観察)	Total protein (mg %)
17	0.7% NaCl	2時間	-	19.2
17	Ringer's sol.	"	-	15.2
17	0.7% NaCl	"	-	12.8
17	Ringer's sol.	"	-	23.7
24	0.7% NaCl	"	-	18.9
24	Ringer's sol.	"	-	16.0
24	0.7% NaCl	"	-	17.7
24	Ringer's sol.	"	-	13.4
24	0.7% NaCl	"	-	18.1
24	Ringer's sol.	"	-	14.6
平	0.7% NaCl			17.32
均	Ringer's sol.			16.58

第 6 表

室温 (°C)	溶 液	凍結 時間	第 2 次塩縮 (3 時間観察)	Amino acid nitrogen (mg %)
20	0.7% NaCl	2時間	-	2.968
20	Ringer's sol.	"	-	3.22
20	0.7% NaCl	"	-	2.8
20	Ringer's sol.	"	-	2.94
20	0.7% NaCl	"	-	2.744
20	Ringer's sol.	"	-	2.8
20	0.7% NaCl	"	-	3.192
20	Ringer's sol.	"	-	3.36
24	0.7% NaCl	"	-	3.164
24	Ringer's sol.	"	-	3.264
平	0.7% NaCl			2.9736
均	Ringer's sol.			3.1168

この場合に於て全蛋白質量は 12~19mg%, amino 酸窒素量は 2.7~3.4mg% 含まれ、室温に放置した場合との間に大なる差は無かった。

VI. 煮沸した後 2 時間放置した外液の全蛋白質量及び amino 酸窒素量について

5cc の 0.7% NaCl 溶液及び Ringer 氏液を

100°C に熱しその中に剔出せる左右の縫工筋を入れ、5分間煮沸した後、室温に2時間放置し、各外液の全蛋白質量及び amino 酸窒素量を測定し第7表及び第8表に示した。

第7表

室温 (°C)	溶 液	100°C に て5分間 煮沸後2 時間放置	第2次 塩 縮	Total protein (mg %)
26	0.7% NaCl	〃	—	83.2
26	Ringer's sol.	〃	—	84.8
26	0.7% NaCl	〃	—	81.6
26	Ringer's sol.	〃	—	67.2
26	0.7% NaCl	〃	—	81.6
26	Ringer's sol.	〃	—	76.0
26	0.7% NaCl	〃	—	80.0
26	Ringer's sol.	〃	—	70.9
26	0.7% NaCl	〃	—	61.8
26	Ringer's sol.	〃	—	68.8
平均	0.7% NaCl			77.64
	Ringer's sol.			73.54

第8表

室温 (°C)	溶 液	100°C に て5分間 煮沸後2 時間放置	第2次 塩 縮	Amino acid nitrogen (mg %)
24	0.7% NaCl	〃	—	3.1024
24	Ringer's sol.	〃	—	3.08
24	0.7% NaCl	〃	—	3.024
24	Ringer's sol.	〃	—	3.125
24	0.7% NaCl	〃	—	3.192
24	Ringer's sol.	〃	—	3.22
24	0.7% NaCl	〃	—	2.94
24	Ringer's sol.	〃	—	2.862
24	0.7% NaCl	〃	—	2.74
24	Ringer's sol.	〃	—	2.91
平均	0.7% NaCl			2.99968
	Ringer's sol.			3.0454

全蛋白質量は他の場合に比し可成多く61~85 mg% であった。又 amino 酸窒素量もやや多く2.8~3.2mg% であった。

VII. 考 察

以上の実験を通じ塩縮外液の全蛋白質及び amino 酸窒素が抑制物質と何等かの関係がある

か? との考は第1実験に依り否定された。即ち若し何等かの関係があるとするならば塩縮外液と Ringer 氏液中の全蛋白質量及び amino 酸窒素量の間には何等かの差が認められる筈であるが著者の実験に於て有意の差は認められなかった。又第2の実験に依り外液中に含まれる全蛋白質量が血液に依る単なる実験上の誤差とも考えにくい。

以上の実験を総合して考えるならば筋から抽出される全蛋白質量及び amino 酸窒素量は溶液中へ室温下に長く放置する程多量に含まれるものであろう。又煮沸及び凍結の操作等の筋肉を破壊する様な操作を加える事に依り多量の全蛋白質及び amino 酸窒素が含まれると思われる。

VIII. 結 論

1) 塩縮抑制物質と外液中の全蛋白質量及び amino 酸窒素量との間には何等かの関係は無く、0.7% NaCl 溶液中で塩縮を起させた場合も又 Ringer 氏液に筋を浸した場合も凡ば同量に含まれた。

2) 種々の変った温度下に於ける外液の全蛋白質量と amino 酸窒素量を定量した所、筋煮沸の場合が最も多量であり筋凍結と室温放置の場合は殆んど同量であった。

擧筆に当り加藤教授の御鞭撻と、林教授、岡本講師の御指導並に御校閲に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) Danielson, J. S. and Hoffman (1933) Amino acid nitrogen in blood and its determination. J. Biol. Chem. 101, 505
- 2) Gornmall, A. G., C. J. Bardawill, and M. M. David (1949) Determination of serum proteins by means of the biuret reaction J. Biol. Chem. 177, 751
- 3) 菊地鑑二 (1949) 骨骼筋の塩縮抑制物質について 日本生理誌 12, 359
- 4) 西山信雄 (1950) 骨骼筋の塩縮抑制物質について 日本生理誌 12, 356

Summary

The experiment at room temperature, the muscle showed salt contraction. The total

protein contained about 17 mg per cent, the amino-acid nitrogen contained 2.7 mg per cent.

The results were the same in a freezing temperatures but at boiling temperatures the muscle gave off the highest concentrations of them.

The total protein and amino acid nitrogen was lowest at temperatures from zero to five degrees centigrade. At this temperature the salt contractions were inhibited but did not abolish the contractility.

(Department of Physiology, Keio-gijuku University School of Medicine, Tokyo)

自然刺激による、筋紡錘求心性神経繊維における、単一 Spike の発出

612.74:612.815.1:612.014.423:612:813

A Single Spike Discharge Evoked by Natural Stimulus of the Stretch-afferent Nerve Fibre of the Frog.

近 藤 勉 (KONDO-Tsutomu)*

I. 緒 言

著者は、蛙の筋紡錘を伸張するさい、それに連なる求心性神経繊維に、一般に信ぜられている様な反復発出が起る代りに、単一の発出が起ることもあるか否かを検討するために、この実験を行つた。

従来、感覚末端器に自然刺激を加えたさい、それに連なる求心性神経に単一発出が起り得るか否かという問題について特に着目検討された例はないようであるが、別の目的から行われた幾つかの研究に、この問題に関して極めて重要な成績が記載されている。即ち Hartline⁶⁾ および Granit⁷⁾ はそれぞれ、眼の光刺激にさいして視神経から明かに単一発出を記録していることから、眼に関する限り単一発出は確実視してよいようである。また Gray and Malcolm⁸⁾⁷⁾ は Vater Pacini 小体および皮膚の触受容器の機械的刺激にさいして、又 Hensel and Zotterman⁹⁾ は彼等の所謂 ‘mechanothermo-receptor’ の熱刺激にさいして、それぞれ単一発出を求心性神経から記録しているのである。しかし、このことは順応の極めて遅い感覚末端器においても同様であろうか。順応の最も遅いものの代表とされている筋紡錘 (Adrian¹⁾ の模式図) についても単一発出の観察乃至記録がないわけではないが (Katz¹¹⁾; Kuffler, Hunt and Quilliam¹³⁾; Hunt and Kuffler¹⁰⁾), その実験は筋紡錘への小遠心性神経繊維に電気刺激を加えた特殊条件下のばあいである。

仍ち、筋紡錘に対して自然刺激である外部からの機械的刺激にたいする応答のばあいにつ

いて、筋紡錘求心性神経繊維における単一の spike 発出を検証しようとした次第である。

II. 実験方法

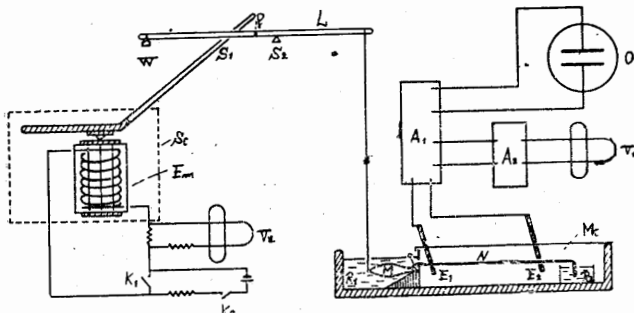
材料としては所謂 Matthews¹⁴⁾ の蛙趾筋標本をもちいた。蛙はトノサマガエル (*Rana nigromaculata*) である。標本には足根の一部を残して、神経は更に筋近くまで分離し他筋への枝は悉く切断した。

該標本の筋内には大抵、筋紡錘が唯1個のみ存在して単一の律動的応答を示すとされているが、第1図の様にこの標本の筋(M)頭が始まる足根部を Ringer 液(R_i)を満した小室内の木片の台にピンで固定し、筋尾の腱を、撚りを戻した細い絹糸で結び、絹糸の他端は上方に位置した麦藁製の横杆(L)の一端に結びつける。Lの他端には錘(W)を吊げる。Lの中央は摩擦の極めて小さい枢軸(P)上に置き、静止位置ではそれに近く且つその両側下方から支持棒(S₁, S₂)がLを水平に支えている。W側の支持棒(S₁)は電磁石(Em)の可動部分にガラス棒を装着したもので、Emを遮蔽する目的の金属性小箱(Sc)の小孔からこのガラス棒が伸び出ている。刺激時にはS₁をEmで下方へ急速に引き降すことにより、Lの支えは外されて、Mは突然伸張されることになる。Emのコイルの回路にはロタトリウムの開放電鍵(K₁, K₂)を介入して可変的に任意の期間だけS₁を下方に引きつけておくことができるようにした。Lの全長は約12cm、固有振動数は毎秒2回程度の充分小さなものである。

Mを伸張したとき、筋紡錘に連なる求心性神経繊維に現われる 偽作電位を腓骨一坐骨神経

* 東京医科歯科大学生理学教室 (山極一三教授)

(N)から誘導することができる。N は R_1 を満した小室から細い孔を通してそれに隣接した温室 (Mc) 内に導き、そこに平行且つ水平に置い



第1図 刺激装置及び観察並びに描記装置 (略図)

A_1 : C-R結合IV段電圧増幅器。 A_2 : 出力変成用電力増幅器。 E_1, E_2 : 誘導用銀線電極。 Em : 電磁石。 K_1, K_2 : 開放電鍵。 L : 交差型槓杆。 M : M. ext. br. prof. dig. III。 N : 腓骨-坐骨神経。 O : Braun管 oscillograph。 P : 枢軸。 R_1, R_2 : Ringer液。 S_1, S_2 : 槓杆支持棒 (S_1 は Em により速かな降昇運動可能, S_2 は固定)。 Sc : Em を遮蔽するための金属性小箱。 V_1 : 動作電位描記用振動子。 V_2 : 刺激時間描記用振動子。 W : 錘り

た1対の誘導用銀線電極 (E_1, E_2) 上に横たえる。Nの切断端は糸で結紮し Ringer 液 (R_2) の溜り内に浸す。断端部より逆向きの発出が起るのを防ぐためである。

偽作電位の観察並びに描記には C-R 結合IV段増幅器 (A_1) を介して、反復掃引 Braun 管 oscillograph (O) に誘導、これを終始観察しつつ、また出力変成 (A_2) をおこなって横河製電磁型 oscillograph のA型振動子 (V_1)に誘導、描記した。なお筋の mechanogram の同時描記は行わず、刺激時間はH型振動子 (V_2)を用いて描記した。

Mを浸した Ringer 液 (R_1) の全量は約20cc、実験休止時にはこれを更新したこともあったが、Matthews⁽¹⁴⁾の様に規則正しく且つ頻回に更新する必要がなかった。仍ち R_1 を更新しなくとも標本は充分な大いさ例えば5gの負荷による持続的伸張により、少くもその伸張直後の高頻度の発出を除けば (このばあいの精細な検討はしなかつた)、それから数秒後の一定頻度に落付いて後は少くも数時間殆ど不変の頻度で反復発出をなすこと、およびその後 R_1 を更新しても頻度に差の生じなかつたことを予め確認し

たのである。また Ringer 液の組成としては主として一般処方のグルコース加 Ringer 液を用いた。Matthews⁽¹⁴⁾の処方によるものも一時用い

たが種々の点で少しも優れているとは思われなかつたからである。実験は室温11°Cから21°C、多くは15°C前後において行われたが、標本は1昼夜以上、ときには3昼夜の長きに亘って充分応答を示した。勿論、実験休止間には標本全体を Ringer 液中に浸し、前述の様に Ringer 液をときどき更新するようにした。また実験の終りに当ってNをMとM側の誘導電極 (E_1) 間において結紮するか、熱湯もしくはアンモニア水を該部に滴下して伝導遮断に陥らしめた後、実験時と同様の操作によりMに伸張を加えて Artifact介入の有無を検し

た。

II. 実験成績

この実験において終始最も煩わされた事は、大抵のばあいに偶発的発出が起った事である。偶発的発出は全く at random で頻度も標本によりまちまち、少いときには1分間に数個以下であったが、全く起らないばあいは極めて稀であった。この点はMatthews⁽¹⁴⁾の所見とかなり異っている。しかし偶発的発出が起るばあいでも、(1)その頻度の小さい標本について頻回に試験を繰り返すこと、および(2) Ringer液 (R_1) に極く少量の $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ を加えて偶発的発出を一時的且つ可逆的に消失させた標本を用いることにより、実験の目的を果すことができた。また標本によっては、田崎⁽¹⁵⁾および Kobayasi, Oshima and Tasaki⁽¹²⁾ が報告している様な相性発出と思われるものの混在することがしばしばあったが、本考察の対象としたものは緊張性発出のみのばあいである。

かくして、次の2つのばあいに単一発出の現われることを認め得た。

A. 筋伸張の期間は実験的無限大で、負荷が

充分小さいばあい：伸張によって反復発出を起すために必要な負荷の大きさは Matthews¹⁴⁾ のばあいと異り 200mg で充分であった。仍ち極大の負荷として約 200mg を用いた。そしてそれより漸次負荷をより小さいものに取り替えてゆくときは、まず反復発出の間隔は次第に大きく且つ不規則となり、次いで発出の総数の減少が起り、遂には唯 1 個の発出のみが現われ、その後少くも 10 秒間第 2 の発出がおこらないことを、多数の標本について頻回の試験により確認した。なお各刺激間

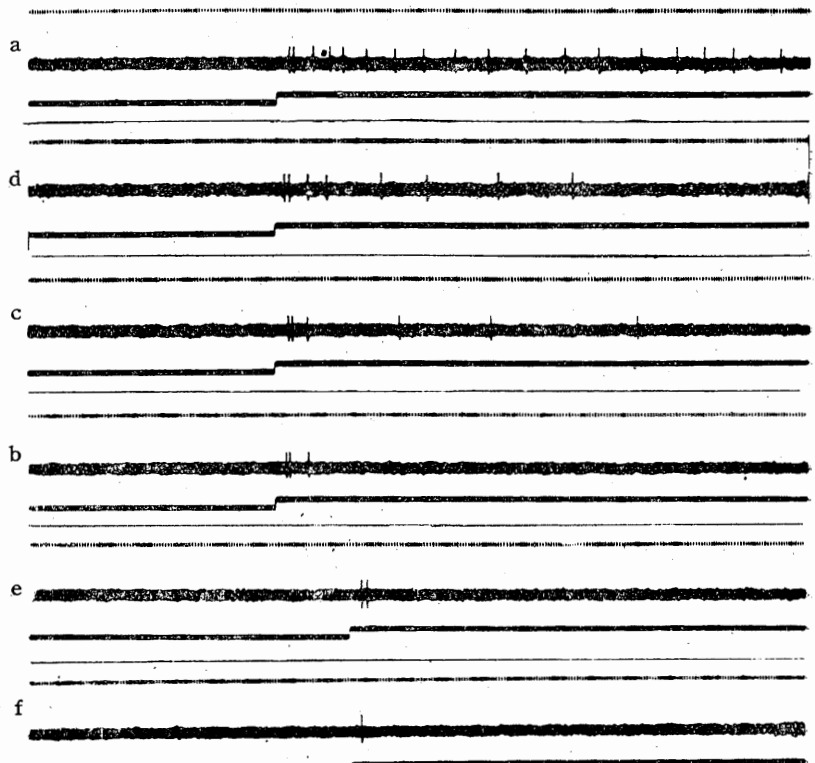
には少くも 3 分以上の間隔を置いて順応の充分な回復に留意した。単一の発出のみを惹き起す負荷の大きさは各標本により差異があるが約 30~70mg、また同一標本につき接時的に行った試験においても、その臨界値は 20~30% の動揺を示すことが多かった。即ち同一負荷で全く発出が起らぬこともあれば、2 乃至 3 個の発出を認めることさえあり、またそれより大または小なる負荷で単一発出を起す様なこともあった。

単一発出は多くは刺激直後に現われた

が、ときには 1 秒近くも経って現われるようなばあいもあった。しかし、これと偶発的発出との判別は困難であるから、本考察においては刺激直後に現われたもののみを外部からの刺激による単一発出と看做した。次に発出が 2~3 個に止まるばあいに、その間隔が発出総数のより多いばあいに比し、特に増大することは認めら

れなかった。第 2 図はその 1 例を示す。

B. 負荷は伸張期間が長ければ充分反復発出を惹き起す大いさで、伸張の期間が充分短いばあい：前述の様に、標本は 200mg の負荷で充分反復発出を起し得るので、約 200mg の負荷を用いた。伸張の期間を漸次短くしてゆくときは、刺激を取り去ると同時に発出が起らなくなるので結局発出の総数が減少することとなり、遂には最初の 1 発のみが発現する。そのさいの伸張の期間は標本により多少相異し、また同一



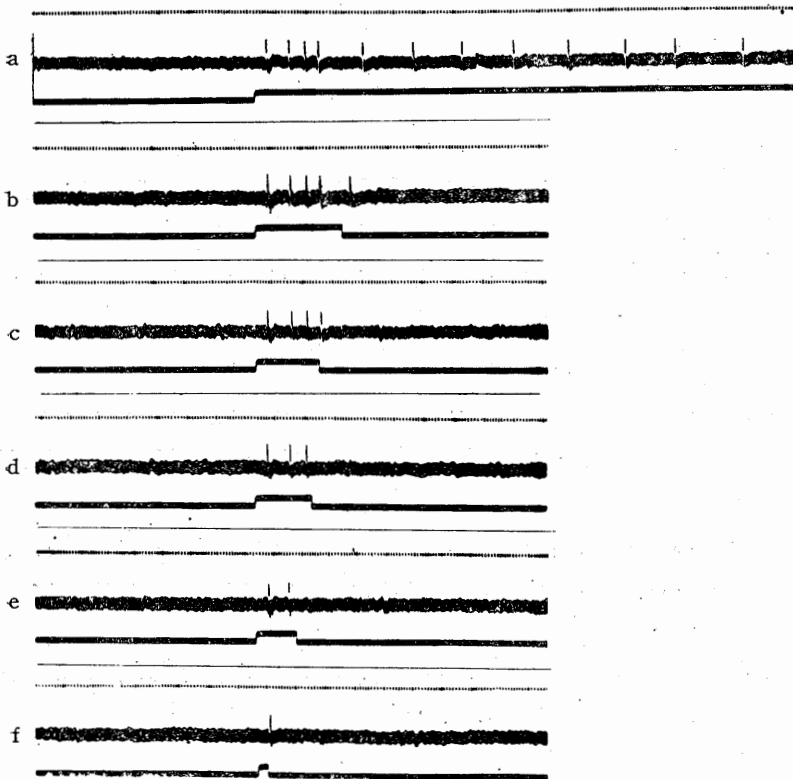
第 2 図 筋紡錘からの単一 spike 発出、(其の 1)。負荷を充分小さくする；
a : 230mg, b : 180mg, c : 160mg, d : 140mg, e : 90mg, f : 40mg, 単一発出！
時尺 : 0.1 および 0.01 sec. 下 : 刺激時間。各刺激間隔 : 3 分以上。室温 : 15°C。
標本は $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ にて処理 (本文参照)

標本でもその試験の度毎に多少動揺を示したことは A. のばあいと同様である。各刺激間には伸張の期間と順応の回復との関係を顧慮したうえで、少くも 1 分以上の間隔を置いた。かようにして 2, 3, 4...等の任意の総数の発出をも惹き起し得るとともに単一発出を惹き起し得ることを確認した。第 3 図はその 1 例を示す。

なお、off-| 効果が認められない事実は発出が‘相性筋求心性繊維’ (Tasaki et al¹⁵⁾¹²⁾ に由来するものでなく、筋紡錘に連なる‘緊張性筋求心性繊維’に由来することを示すと考えられる。

IV. 考 察

冒頭において述べた様な、Hartline⁸⁾ および



第3図 筋紡錘からの単一Spike発出、(其の2). 筋伸張の期間を充分短くする；
a, b, c, d, e, f の順に短くなる。f: 単一発出！時尺：0.1 および 0.01 sec. 下：
刺激時間。各刺激間隔：1分以上。室温：11°C。標本は $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ にて処理 (本文参照)

Granit⁵⁾ の眼における光刺激の実験、Gray and Malcolm⁶⁾⁷⁾ の Vater Pacini 小体および皮膚の触受容器における機械的刺激の実験、Hensel and Zotterman⁹⁾ の ‘mechano-thermo-receptor’ における熱刺激の実験、および著者の筋紡錘における実験により、一般的に云って感覚末端器はその種類の如何を問わず、弱い自然刺激に応じて、それに連なる求心性神経繊維に単

一発出を惹き起し得るのではないかと想像する。殊に著者の実験は、特にこの問題に着目しつつ行ったから、単一発出が起り得るか否かを観察した時間が充分長くまた他の実験のそれに比して遙かに長い。そして単一発出の事実を確認したのである。なお、Katz¹¹⁾ および Kuffler et al¹³⁾¹⁰⁾ の筋紡錘への小遠心性神経繊維の電気刺激による、その求心性神経繊維における単一

発出の観察ないし記録は、自然刺激を用いたばあいと条件が異なるかも知れないが、著者の実験成績に一致すると考えられる。また Geranndt⁴⁾ の水平管に対する caloric の刺激による単一発出の記録も、用いた刺激が自然刺激でなく、且つ記録に時間描記がないが、著者の主張の裏付けになるかも知れない。嘗て、Adrian and Zotterman²⁾ が彼等の検討した範囲内で、凡ての種類の感覚末端器が質的に同じ応答を示すことを観たのであるが、適当刺激の弱いばあいに最後に求心性神経繊維に単一発出が起ることも、凡ての感覚末端器について共通な現象で

あると思われる。

従来、感覚生理学の研究は、人体感覚器のばあいには刺激と感覚との関係について、他方、動物実験においては刺激と衝撃との関係について行われ、それぞれ著しい発展を遂げつつ今日に至っているが、衝撃と感覚との関係も亦、将来研究すべき重要な問題であると思われる。現に Dawson³⁾ は恐らくこの問題に著手してお

り、本教室の小西（未発表）も皮膚痛覚について衝撃と痛覚との関係を研究しつつある。そして、この問題の研究においては、感覚刺激の閾値における衝撃の型（pattern）を知ることは類する重要である。即ち感覚刺激の閾値においては感覚末端器から求心性神経繊維にどのような衝撃が送り込まれるであろうか、唯1個の衝撃か、それとも反復性の衝撃であろうか、もし反復性の衝撃ならばどのような様な間隔を置いて配列される幾個の衝撃であろうか？ かかる問題の解決には、主観的感覚を指標とするため、人体実験に待たねばならぬことは云うまでもないが、その基礎的問題の1つとして、順応の起り難い感覚末端器にも単一発出の起り得るか否かを決定することが必要と考えて本実験を行った次第である。

なお、感覚末端器からの単一発出に要する刺激閾が反射の刺激閾に等しいか否かも将来研究すべき課題である。

V. 要 約

1. 凡ての感覚末端器が自然刺激により単一発出を起し得るか否かを検討する目的で、順応の最も遅いものの代表とされている筋紡錘についてこの問題を検討した。即ちMatthews¹⁴⁾の蛙趾筋標本について、筋に伸張を加え、それに連なる求心性神経繊維に発現する偽作電位を腓骨一坐骨神経から誘導して、(A) 負荷が充分小さいばあいおよび (B) 伸張の期間が充分短いばあいに、単一発出の起ることを確認した。

2. なお同一実験においてそれより幾らか負荷が大きえばあい、または伸張の期間が長いばあいには2乃至3個の発出が観られ、更に、それより負荷が大きえばあいには、最初の間隔はさほど変らないが発出の総数が次第に増加すること、また伸張後の経過時間とともにその間隔の増大する傾向が観られた。なお最後の時間における間隔は負荷が大きい程より小で且つより規則的であった。次に負荷が一定で伸張の期間がより長いばあいにはその伸張の期間のみ、最初は小さく後に大きい間隔の反復発出が観られ

た。

終りに、山極一三先生の御指導に対し厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Adrian, E. D. (1928) The basis of sensation, 1st ed. p. 122. London : Christophers.
- 2) Adrian, E. D. and Y. Zotterman (1926) The impulses produced by sensory nerve endings. Part 2. The response of a single end-organ, and Part 3. Impulses set up by touch and pressure. J. Physiol. 61, 151-171 and 465-483
- 3) Dawson, G. D. (1950) Cerebral response to nerve stimulation in man. Brit. med. Bull. 6, 326-329
- 4) Gernandt, B. (1950) The effect of the centrifugal force upon the nerve discharge from the horizontal canal. Acta physiol. Scand. 21, 61-72
- 5) Granit, R. (1942) Spectral properties of the visual receptor elements of the guinea pig. Acta Physiol. Scand. 3, 318-328
- 6) Gray, J. A. B. and J. L. Malcolm (1950) The initiation of nerve impulses by mesenteric Pacinian corpuscles. Proc. Roy. Soc. B. 137, 96-114
- 7) Gray, J. A. B. and J. L. Malcolm (1951) The excitation of touch receptors in frog's skin. J. Physiol. 115, 1-15
- 8) Hartline, H. K. (1934) Intensity and duration in the excitation of single photoreceptor units. J. Cell. and Comp. Physiol. 5, 229-247
- 9) Hensel, H. and Y. Zotterman (1951) The response of mechanoreceptors to thermal stimulation. J. Physiol. 115, 16-24
- 10) Hunt, C. C. and S. W. Kuffler (1951) Further study of efferent small-nerve fibres to mammalian muscle spindles. Multiple spindle innervation and activity during contraction. J. Physiol. 113, 283-297
- 11) Katz, B. (1949) The efferent regulation of the muscle spindle in the frog. J. exp. Biol. 26, 201-217
- 12) Kobayashi, Y., K. Oshima and I. Tasaki (1952) Analysis of afferent and efferent systems in the muscle nerve of the toad and cat. J. Physiol. 117, 152-171
- 13) Kuffler, S. W., C. C. Hunt and J. P. Quilliam (1951) Function of medullated small-nerve fibers in mammalian ventral roots: Efferent muscle spindle innervation. J. Neurophysiol. 14, 29-54
- 14) Matthews, B. H. C. (1931) The response of a single end organ. J. Physiol. 71, 64-110
- 15) 田崎一二 (1944) 神経繊維の生理学 第1版 343頁 東京：河合商店

Summary

1. An appropriately weak natural stimulus was applied to the muscle spindle which is regarded as a very slowly adapting receptor and it was examined whether in its afferent nerve fibre a single (not repetitive) spike discharge is evoked or not. The purpose of the experiment was to ascertain that every receptor can discharge a single spike.

Thus the afferent discharges were led off from the peroneal and sciatic nerve attached to the Matthews' toe-muscle preparation¹⁴⁾ of the frog, and the author confirmed that a single spike discharge can be evoked by a weak stimulus, the appropriate intensity of the stimulus being obtained by decreasing the load or by shortening the duration of the stretch stimulus.

2. In the same experiment, when the load or the stretch duration was slightly increased two to three discharges were observed.

When the heavier load was applied the total number of the discharges increased, the initial value of their frequency, however, being almost unaltered. In general the frequency was at first large, but later became smaller. This later frequency was larger and more regular as the load increased.

In the case of the constant load and the increased stretch duration the repetitive discharges, the interval of which increased gradually, were evoked only in the stretched state.

(Department of Physiology, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo)

皮膚痛覚器に於る Slow process 並びに

二重痛覚の問題 612.884:612.014.423

A Slow Process Underlying the Skin Pain Sensation, and a Contribution to the Problem of Double Pain.

小西喜久治 (KONISHI-Kikuji) *

Adrian^{1a)}が感覚の基礎として、知覚神経中を走る求心性衝撃が通常単一でなくて series であること、又夫れに由て幾多の経験的事実が説明されることを見出して以来、一般に神経の衝撃検索を目的とする研究が続々と現われ、殆んど神経系の全域に涉って余すところなく研究つくされた。其の結果 Adrian の云うように、神経の自然的興奮には、特別の場合を除き常に一列の衝撃が伴うことが確認された。然らば此の一列の衝撃は如何にして生産されるであろうか。夫れに対してはにわかな輕断は許されないが、今迄に得られた神経生理学上の知見から考えて、最も簡単かつ可能性の大なるものは、興奮した受容器が所属神経に対して generator としての機能を有するのではなからうか、と云うことである。即ち受容器の興奮が時間的に比較的緩慢に持続し、その間所属神経線維を反復興奮せしめるのではないか、と云うことである。此の想定を実験的に検索するには2つの方法が考えられる。1つはその緩慢な過程が所謂 generator potential²⁾として電気的表現を持つであろうとの想定の下に、遅電位の検出を目図す方法である。これは本研究の目標の1つであり、既に若干試みもしたが、困難が多くて未だ知見を得るに至らない。他の方法は、その緩慢な興奮過程の根底に、同じく緩慢な何等かの物理化学的過程を想定し、夫れを適当な方法で検出しようとするものである。それには所謂閾下刺激を先ず加え、それによって惹起される内部過程の発展消長を追って、種々なる時間々程で第二刺激を加え、その都度正に感覚を惹起す閾刺激の強さを決定する方法である。

本実験に於ては、方法として上述の第二の方法を採り、自己の皮膚痛覚を目標として実験を実施し、所期の結果を得たが、同時に図らずも二重痛覚の問題に遭遇し、聊か所見を得たので茲に報告する次第である。

元来痛覚神経は他の皮膚知覚神経と異なり組織学的には特殊の受容器を持たないとされている (Woollard et al.³⁾, Weddell⁴⁾) が、痛点の刺激に由て遊離の神経終末が直接に刺激されるとすると理解の困難な生理学的事実が、いくつか知られている。亦、痛覚の質の問題としての二重痛覚は、痛覚の種としての独立性の問題とからみ合せて、その存在及び成因に就ては種々の異論がある。

人体皮膚の単一痛点を対象とする本実験の成果が、これらの問題の解明の一助たり得れば幸いである。

1. 実験方法

刺激電極：単一痛点刺激用として充分に小さい孔径 (120 μ) の、側管を有する Pratt 式電極 (第1図a) を用い、之を自製の保持器 (第1図b) に取りつけたうえ、被検者 (著者) の膝関節に近い大腿伸側皮膚面にあてがう (第1図c)。電極の上方管口から研磨した針を通して単一痛点を検出した後、側管と Ringer 氏液水槽とを連結するゴム管の栓をゆるめて電極内に液を通す。電極、保持器はそれによって何らかの感覚を生ずることなく、なるべく皮膚の圧迫変形を来さぬ程度に装著する。不関電極用の Ringer 氏液水槽に足全体を浸す。両水槽に夫々銀板 (100cm²) を浸す。之が不分極性であることは Braun 管オスシログラフで確めてある。

* 東京医科歯科大学生理学教室 (山極一三教授)

刺激電流：凡て直角電流を用いる。その発生には、Helmholtz 振子の鍵開放又は点接触に由る電撃を用いた（第1図c）。

斯くて単一痛点に閾下（閾の70~90%前後）の第一刺激 V_1 を与え、続いて第二刺激 V_2 を与えて正に痛覚を惹起すその閾電圧を決定する。 V_2 は実測の結果両刺激の時間々程 t (30 msec. 迄追求) に依存する。そこで単一刺激に由る閾電圧 V_0 との差を V_0 に対する百分比で表わしてプロットすれば、その経過は閾下の第一刺激に由て痛覚器に生じた過程の時間的消長を表わすものと考え得る。 V_0 は実験中に変動するので、 V_2 測定の前度測定し、かつ全体として変動値の小なる実験例を採用した。

II. 実験結果

A. 単一刺激（速い痛み）

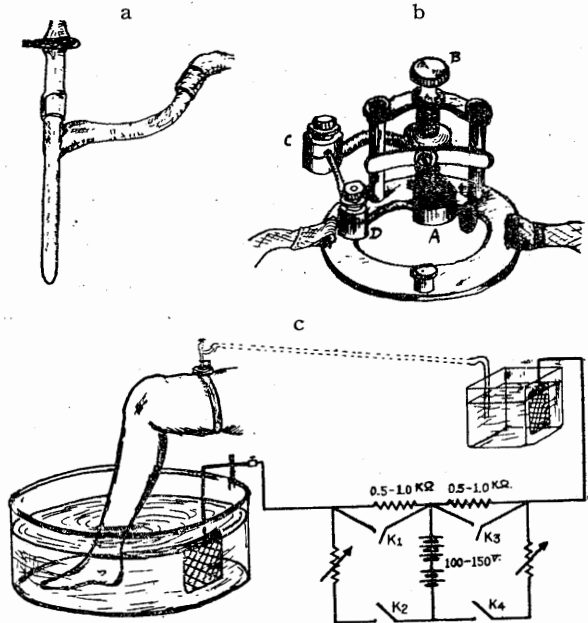
単一刺激 V_0 (及び第二刺激 V_2) には常に点接触の持続時間（朴沢⁵⁾によれば 24.7 μ sec.) を用いたが、充分な電圧では単一刺激に由て単一の痛みが起る。その痛みの性質は、急激に始まって急激に消退する瞬時的な、明かに刺激部位に局在するものである。之は次節に述べる二重刺激の結果と対照して、明かに所謂速い痛みに該当するものと考えられる。閾刺激では、痛みの性質を失い、軽い触感或は prick の感覚になるが、同じ痛覚器に由て生ずる感覚であることは間違いない。

B. 二重刺激（速い痛み及び遅い痛み）

1. V_1 : 陰極性、閾下（閾の80%前後）の一定電圧。 V_2 : 陰極性、常に点接触（以下同じ）

第2図（実験例1~3）は V_1 の持続時間が点接触の夫れである場合であって、各例は相似の経過をとる。実験例2に就てみるに、時間々程 (t) 5msec までは瞬時的の、前項で述べたものと性質の同じ prick が起り、その閾電圧 V_2 は $t=0.1$ msec では V_0 より25%低く、以後次第に高くなって、 $t=5$ msec 以後は V_0 と略々同じ値をとる。他方 $t=7$ msec 以後に於ては、

V_0 より低い電圧（例えば $t=15$ msec では V_0 より40%低い） V_2' に由て、prick とは性質の異った第二の感覚が起るのである。夫れは、遅くゆるやかに始まって長く持続する、矢張り刺激部位に投射される弱い痛みである。第二刺激を V_0 と同じ電圧 ($t=15$ msec では65.7V) に高めれば、先ず prick、続いて此の遅い痛みが感ぜられる。これら両種の感覚の間には無感覚の

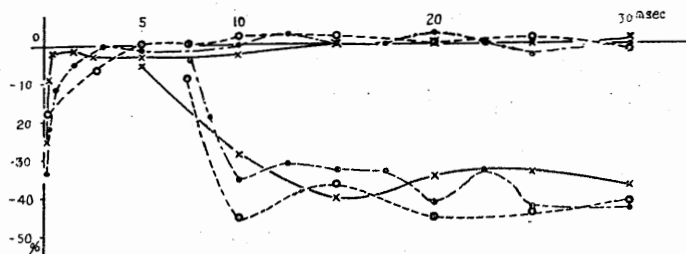


第1図

- a. ガラス電極
- b. 電極保持器 Aにエポナイト製のリングがはめてあり、之に電極を挿入。ネジBで上下、閾関C、Dで前後左右に移動させることができる
- c. 全体の装置図 点接触の場合は K_1 又は K_3 は使用しない

間程が介在する故に、容易に識別される。之が二重痛覚であることは間違いない。夫々の痛みを目標にして決定した閾電圧 V_2 , V_2' の変化が、相異なる経過をとることは図に現われた通りである。 t を更に増大した場合に、 V_2' が如何なる経過をとるかは、装置の都合上充分な追求をなし得なかったが、 $t=75$ msec の場合に閾電圧 V_2' が尚 V_0 の23%減をしめした所見からみて、効果は相当永く続くものの様である。

尚 V_1 の持続時間を長くした場合 (1msec 及



第2図

び15msec) も若干試みたが、各例毎に変動が激しく、 V_2' 曲線の分離が明確でなかった。理由は不明であるが、何か未知の complication が加わって来るものと考えられる。

2. V_1 : 陽極性, 閾下 (閾の70~80%前後) の1定電圧。
 V_2 : 陰極性。

第3図 (実験例 4~6) は V_1 の持続時間が点接触の夫れである場合である。t の如何に拘らず常に prick のみが起り、遅い痛みは起らない。その閾電圧 V_2 の変化は、前項の V_2 曲線と正に逆方向の経過をとり、持続時間は大体 7msec 以内である。

V_1 の持続時間を 1 msec, 15msec にした場合は、経過が長びく (20~30msec 或は夫れ以上)。その他には上の場合と変りなし。

3. V_1 : 陰極性, ebenschwellig の一定電圧, 点接触。
 V_2 : 陽極性, 点接触。

第4図 (実験例 7) はその1例である。 V_1 のみでは速い痛みが起るが、その直後に逆方向の第二刺激を加えて、痛みの起らない閾電圧 V_2 を決定する。すなわち V_2 に由る刺激打消し作用の検討である。実

験の結果、 V_1 の刺激効果を打消し得る

実験例 1

時 間 程 々 t (msec)	0.25	2.5	5	7.5	10	15	20	25	30
V_0	41.8	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	41.0	40.2	40.2
V_2	34.4	38.7	41.0	41.8	41.8	41.8	41.0	41.0	39.5
V_2'				38.0	22.7	26.0	22.7	22.7	23.7
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	-17.7	-5.6	0	0	2.0	2.0	0	1.9	-1.7
$\frac{V_2' - V_0}{V_0} \times 100$				-9.1	-44.7	-36.6	-44.7	-43.7	-41.1

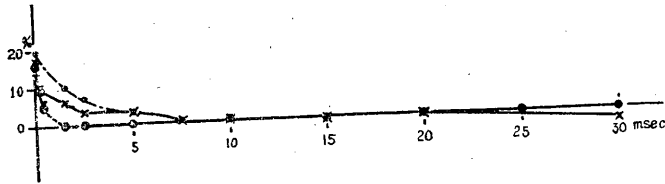
実験例 2

t (msec)	0.1	0.25	0.5	1.5	2.5	5	10	15	20	25	30
V_0	64.5	66.5	66.5	66.5	64.5	62.6	64.5	65.7	64.5	66.5	64.5
V_2	48.4	60.8	65.7	65.7	62.6	60.8	62.6	65.7	64.5	66.5	65.7
V_2'					59.2	46.3	39.4	42.6	42.6	44.4	40.9
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	-25.1	-8.6	-1.2	-1.2	-2.9	-2.9	-2.9	0	0	0	1.9
$\frac{V_2' - V_0}{V_0} \times 100$					-5.4	-28.2	-40.0	-34.0	-34.0	-33.4	-36.6

実験例 3

t (msec)	0.1	0.25	0.5	1.5	2.5	5	7.5	8.5	10	12.5	15	17.5	20	22.5	25	30
V_0	53.3	54.6	54.6	54.6	53.3	53.3	54.6	54.6	53.3	53.3	56.0	54.6	53.3	54.6	56.0	53.3
V_2	35.5	42.6	48.4	51.9	53.3	51.9	54.6	56.0	53.3	54.6	56.0	54.6	54.6	54.6	54.6	53.3
V_2'						51.9	44.4	44.4	34.4	36.7	38.0	36.7	31.3	36.7	32.3	30.4
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	-33.4	-22.0	-11.4	-4.9	0	-2.4	0	2.6	0	2.6	0	0	2.4	0	-2.5	0
$\frac{V_2' - V_0}{V_0} \times 100$																

 $V_1: 44.4V$



第3図

実験例 4									
t	0.1	0.25	0.5	1.5	2.5	5	10	15	30
V_0	48.4	48.4	48.4	48.4	48.4	48.4	48.4	48.4	48.4
V_2	56.0	53.3	50.7	48.4	48.4	48.4	48.4	48.4	48.4
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	15.7	10.1	4.8	0	0	0	0	0	0

実 験 例 5												
t	0.1	0.25	0.5	1.5	2.5	5	7.5	10	15	20	30	V ₁ : 61.9 V
V ₀	62.6	62.6	62.6	62.6	62.6	62.6	62.6	62.6	62.6	60.8	62.6	
V ₂	73.5	68.7	66.6	66.6	64.6	64.6	62.6	62.6	62.6	60.8	60.8	
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	17.4	9.7	6.4	6.4	3.2	3.2	0	0	0	0	-2.9	

実 験 例 6												
t	0.1	0.5	1.5	2.5	5	7.5	10	15	20	25	30	V ₁ : 26.5 V
V ₀	17.7	17.1	17.1	17.7	17.1	17.1	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	
V ₂	21.2	19.6	18.9	18.9	17.7	17.1	18.3	18.3	18.3	18.3	18.3	
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	19.8	14.6	10.5	6.8	3.5	0	0	0	0	0	0	

為の V_2 は時間々程 t とともに急激に増大し、 $t=0.13\text{msec}$ に至って事実上無限大となる。即ち打消し作用が猶有効に 働く 最大時間々程は 0.13msec で、夫れより長い t では V_2 自身の為痛覚が生ずる。

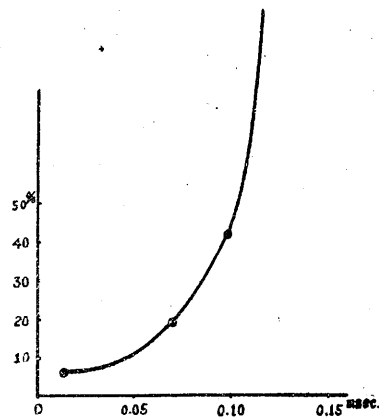
II. 考 察

二重痛覚に就ての記載は古くからあるが、その成因に関する異論を大別すれば次の如くである。第一に、明かに触感覚との混合に由るものとし (Gad & Goldscheider⁶⁾, V. Frey⁷⁾), 或はその可能性を論じて二重痛覚の成立を否定するもの (Bishop⁸⁾ 刺激は感応電撃及び spark discharge)。第二に、Thunberg⁹⁾ は単一電気刺激 (感応電撃及び定常電流) に由ても明かに二重痛覚が起り、速い痛みは痛覚神経が直接に刺激され、遅い痛みはその神経終末器が刺激されるのに由ると推定している。略々同様な見解をもつものに Adrian¹⁰⁾ がある。第三には何が直接に刺激されるかは問わずに、痛覚器を主宰する二群の神経線維 (A- δ , C) を考え、その伝導速

度の差に由て生ずるとするもの (Lewis¹⁰⁾, Gordon & Whitteridge¹¹⁾) である。

混乱の主因は、研究対象が各研究者の主観に關係し、従って純客観的な表現乃至その具体的再認が不可能であることにあるが、一つは刺激乃至その方法の相異に由て、単

位的実体が適切に刺激されたか否かが明瞭でない点に問題がある。強刺激では、いくつかの受容器に刺激が波及することも考えなくてはならない。本実験では此の点を考慮して、出来る限



第4図

実験例 7				
t	0.014	0.07	0.098	0.127
V_0	20.76	20.50	20.50	20.50
V_2	1.44	3.90	8.42	44.44
$\frac{V_2}{V_0} \times 100$	6.9	19.0	41.1	216.5

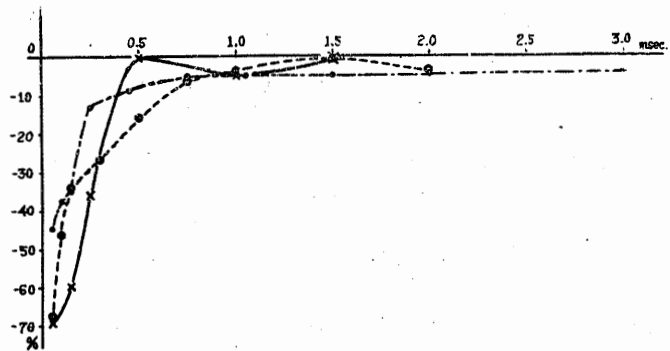
り厳密に単一痛点の電氣的刺激閾の時間的数量的追究を心がけた。

著者は先ず、点接触の単一刺激では prick のみ生ずることをみた。之は Thunberg の所見に相異し、Gad & Goldscheider 及び Bishop の觀察に一致する。但し、Gad 其他に一致すると云うのは、「二重感覚が起らない」と云う意味に於てであって著者がここに prick と表現したものは確かに「痛」であり、「触」とは思われない。次で二重刺激、即ち予め閾下の刺激を加えた後種々なる時間々程 t に於て、第二刺激を加える方法に於て、始めて二重痛覚を経験した。不思議なことに、単一刺激では何故か遅い痛みが生じない。刺激の持続時間を 15msec まで増大しても結果は不成功であった。

扱て第4図(実験例7)は速い痛みに関する被刺激性形態の興奮発生の経過を、第2図(実験例1~3)及び第3図(実験例4~6)の V_2 曲線群(速い痛み)は夫れの閾下刺激に由て生じた過程の消退しゆく経過を、又第2図の V_2 曲線群(遅い痛み)は遅い痛みに関する被刺激性過程の発現しゆく経過を、夫々表わしていると考えられる。ここで、閾下刺激に由て生ずる過程を、興奮発

生の経過の根底に存するものと考え、その消長の模様から被刺激性形態を推定して見たい。

然る時 V_2 曲線(速い痛み)に関係する被刺激性形態は何であらうか。 V_2' 曲線(遅い痛み)に関係する夫れと同一のものか否か。先ず V_1 の通電方向に由て互に逆方向の過程を生ずる(第2図と第3図)ことから、問題は末梢に在ることが想像される。然らば、それが 1) 神経線維の過程か、2) 或は受容器的な働きをする神経終末乃至は未知の受容器そのもの(その組織学的実体をかならずしも否定し得ないことは Ferreira-Marques¹²⁾ 参照)の過程であるか。之に就て決定的なことは云い得ないけれども、 V_2 曲線群、即ち速い痛覚の成起に及ぼす閾下予備刺激の影響を示す曲線群の経過が急速であって(特に時間々程の短い期間に就て得た曲線



第5図

実験例 8

t	0.05	0.1	0.15	0.3	0.5	0.75	1.0	1.25	1.5	2.0	
V_0	60.0	60.0	57.8	60.0	60.0	57.8	62.3	60.0	60.0	62.3	$V_1: 42.7 \text{ V}$
V_2	19.8	32.4	37.7	43.8	50.6	54.0	60.6	55.8	60.0	60.0	
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	-67.0	-46.0	-34.8	-27.0	-15.7	-6.6	-3.7	-7.0	0	-3.7	

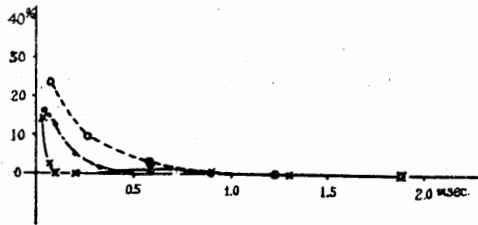
実験例 9

t	0.05	0.15	0.25	0.5	1.0	1.5	
V_0	34.3	32.9	33.5	34.3	33.5	32.2	$V_1: 17.9 \text{ V}$
V_2	13.4以下	13.4	21.5	34.3	32.2	32.2	
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	-60.9以上	-59.2	-35.7	0	-3.9	0	

実験例 10

t	0.05	0.1	0.15	0.25	0.45	0.75	1.05	1.5	2.0	3.0	
V_0	80.5	80.5	84.8	80.5	80.5	80.5	80.5	80.5	80.5	80.5	$V_1: 80.5 \text{ V}$
V_2	44.7	50.3	55.5	70.0	73.2	76.7	76.7	76.7	76.7	76.7	
$\frac{V_2 - V_0}{V_0} \times 100$	-44.5	-37.5	-34.6	-13.0	-9.1	-4.7	-4.7	-4.7	-4.7	-4.7	

—第5図, 実験例 8~10及び第6図, 実験例11~13—に於て特に明瞭である), 宛も速い痛みの瞬時性に対応し, 而もその程度が, 著者と類同の方法で松本¹³⁾が単一運動神経線維(蛙)に就て得た結果と大体に於て一致する事からみて, 速い痛みは神経線維の刺激に由来するものではないかと考えられる. 勿論蛙の神経(松本)と人の神経(著者)とを同一視することは出来ないけれども, 刺激打消しの有効な最大時間々程(0.13msec)も亦, 同じく松本の“absolutes



第6図

実 験 例 11									
t	0.07	0.26	0.59	1.23	1.88				
V ₀	48.5	45.7	45.7	45.7	48.5	V ₁ : 53.3 V			
V ₂	59.2	50.0	47.0	45.7	48.5				
$\frac{V_2-V_0}{V_0} \times 100$	23.4	9.4	2.8	0	0				
実 験 例 12									
t	0.04	0.07	0.1	0.2	0.59	0.91	1.3	1.88	
V ₀	82.0	80.0	80.0	84.2	82.0	8.00	83.3	83.3	V ₁ : 80.0 V
V ₂	94.2	82.0	80.0	84.2	83.3	80.0	83.3	83.3	
$\frac{V_2-V_0}{V_0} \times 100$	14.7	2.5	0	0	1.6	0	0	0	
実 験 例 13									
t	0.04	0.1	0.2	0.33	0.59	1.23			
V ₀	97.0	91.4	95.8	95.8	94.1	97.0	V ₁ : 114.2 V		
V ₂	112.6	103.2	100.0	97.0	94.1	97.0			
$\frac{V_2-V_0}{V_0} \times 100$	16.1	12.9	4.4	1.3	0	0			

Kritisches Intervall”(松本 Abb. 9-12)と次序に於てよく一致することは, 更に此の想定を強める. 詳細な点の不一致は実験対象の相異に由るとして, 許容され得るであろう. 但し上述の考えの根底には, 速い痛みが一発の神経衝撃に由て惹起されることが暗々裡に仮定されている. 感覚が果して一発の衝撃で惹起されるか, 或は数個の衝撃に由て始めて惹起されるかは, 一連の衝撃発生を通常とする神経の事実と共に, 重要な基礎的問題の1つと考えられるが,

Adrian^{1a)}に由れば神経に対する single shock で感覚は惹起されると云うし, 又本実験の結果からみても, 此の考え方に由て全体の所見の理解が円滑に行われる.

V₂' 曲線群(遅い痛み)は V₂ 曲線群(速い痛み)より遅れて(5~15msec)著明になり, その経過ははるかに長い. 遅い痛みの感覚が長く持続する事に, 少なくとも質的には対応する現象である. 斯かる長い経過の過程が何所で起るであろうか. 1) 神経線維に於て生ずるとは考え難い(既知の知識に反するのみならず, 速い痛みに関する上述の想定と撞著する). 2) V₁が陽極性のときには該現象が現われない事実などをも考慮して, 該曲線群が中枢神経系に於る過程を表わしているとも考えることも, 一応不可能ではない. 即ち閾下刺激 V₁が閾下なのは感覚成起を目標にした事柄であって, 神経衝撃として

は実は中枢まで到達しており, ただ中枢で起る刺激過程が必要限度に達せず, そこえ刺激 V₂に由る衝撃が加わって始めて有効になる, と云う考え方である. 併し此の考え方は取りも直さず, 単一衝撃は感覚を起さぬ事を前提とするから, 従って前述の速い痛みの成立に関する想定を放てきして, 所謂閾下刺激に当たて既に何箇かの衝撃を予想することになる. それが, 点接触の様な短時間の閾下単一刺

激の様な場合に可能とは考えられない. のみならず此の考え方を採用すれば, 前述の速い痛みに関する V₂ 曲線の根底に横たわる過程も亦, その何発かの求心性衝撃に由る中枢性過程と見做さねばならず, 斯くて同一場所に2つの異った過程を推定する困難に陥る. と云って速い痛みに関する過程だけを末梢性, 遅い痛みに関する過程のみを中枢性とも考えることも亦同様に困難である, とすれば, 遅い痛みに関する過程の起る場所として, 3) 神経線維とは異なる働きをする

何らか末梢の被刺激性形態を考えざるを得なくなる。遊離神経終末に、受容器的働きをする機構乃至受容器そのものの存在が考えられる所以である。斯くて V_2' 曲線は痛覚器の斯かる部分に於る過程を表わすと見做すならば、実験的に把握された其の過程の緩慢さから、経験的に知られている遅い痛みの長い持続時間を一応了解することが出来る。勿論之が唯一の考え方ではない。神経線維の伝導時間の差に帰するのは無理としても、例えば、単純な求心性径路と、複雑な多ニューロン性迂回々路があるとすれば、夫れに由て上記 silent period で隔てられた二種の感覚の成起を想像できなくもない。併しその場合に、兩種感覚の基礎過程を表示すると考えられる上記 V_2 及び V_2' 曲線の時間的経過の相異を説明するには、更に又仮定を重ねなければならない。斯くてここでは、差し当り最も妥当と考えられる上記の末梢二原体説（線維と末端器）を提唱し、餘は将来の解明に俟つことにする。

最後に、本実験で得られた所見の中には、若干の理解に困難な事実がある。就中次の2つがある。

1. V_1 を陽極性にした場合には prick のみが現われ、遅い痛みに関係した V_2' 曲線が現われないこと。

2. 遅い痛みは二重刺激の時に丈経験され、単一刺激では認められなかったこと。

若し既に述べた様に、遅い痛みが受容器に生ずる slow process に起因するものであるとすれば、第一刺激の電流方向を逆にした場合には逆方向の理化学的変化が期待され、従って夫れに対応する V_2' 曲線が現われる筈である。然るに事實は之に反する。ただ之に関連して想起されることは、筋、神経等に就て知られている所謂“local response”である。此の local response は本実験の場合と同様に、陰極性電流の場合に丈現われ、陽極性電流の場合には現われない。此のことから単なる electrotonic のものではなくて、active response とされている。本実験に於て想定された受容器の slow process も

或は之と軌を一にするものかも知れない。第二の、遅い痛みが何故単一刺激では現われないかの問題は、差し当り全然手がかりがない。2つの被刺激性形態間の特殊な構造的乃至機能的連関を想像できなくもないが、今は之を差控え、ただ事実の報告に止める。

IV. 結 論

人体皮膚の単一痛点を継時的に2個の直角電撃に由り刺激し、刺激に由て痛覚器に生ずる遅速2つの過程を表わす曲線を得た。前者即ち遅く始まって緩慢に経過する過程は、恐らく痛覚神経終末の受容器的働きをする部分乃至は未知の受容器そのものに生ずる過程なることを推定した。斯かる緩慢な過程が、受容器の比較的緩慢に持続する興奮過程の根底に存すると考えられる。後者即ち速く始まって比較的急速に経過する過程は、痛覚神経線維の直接の刺激に由る過程と推定されるが、決定的なことは不明である。之等2つの過程から、二重痛覚の成因を考察した。

本実験には 恩師山極教授より 懇切有益な御指導をいただき、亦御病氣中にも拘らず校閲を賜わった。心から感謝の意を表わし度い。

文 献

- 1) Adrian, E. D. (1928) The basis of sensation. Christophers, London., (1919) The responses of human sensory nerves to currents of short duration. J. Physiol. 53, 70-85
- 2) Bernhard, C. G., R. Granit and C. R. Skoglund (1942) The breakdown of accommodation-nerve as model sense-organ. J. Neurophysiol. 5, 55-68
- 3) Woollard, H. H., G. Weddell and J. A. Harpman (1940) Observations on the neurohistological basis of cutaneous pain. J. Anat. 74, 413-440
- 4) Weddell, G. (1941), The pattern of cutaneous innervation in relation to cutaneous sensibility. J. Anat. 75, 346-367
- 5) Hozawa, S. (1928) Die “Anfangszacke” des elektrischen Stromes durch den Menschenkörper, betrachtet als Ladungerscheinung der Polarisationskapazität der Haut. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 219, 114-140
- 6) Gad, J. and Goldscheider (1892) Ueber die Summation von Hautreizen. Ztschr. f. klin. Med. 20, 339-373

- 7) Von Frey, M. (1922) Versuch über schmerzzerregende Reize. *Ztschr. f. Biol.* 76, 1-24
- 8) Bishop, G. H. (1944) The structural identity of the pain spot in human skin. *J. Neurophysiol.* 7, 185-198, (1943) Responses to electrical stimulation of single sensory units of skin. *J. Neurophysiol.* 6, 361-382
- 9) Thunberg, T. (1902) Untersuchungen über die bei einer einzelnen momentanen Hautreizung auftretenden zwei stechenden Empfindungen. *Skandinav. Arch.f Physiol.* 12, 394-442
- 10) Lewis, T. (1942) *Pain.* Macmillan Co., New York.
- 11) Gordon, G. and D. Whitteridge (1943) *Lancet*, 2, 700-701, (Cited from Sanders, F. K. 1947. Special senses, cutaneous sensation. *Ann. Rev. Physiol.* 9, 553-568)
- 12) Ferreira-Marques, J. (1951) Systema Sensitivum Intra-epidermicum. Die Langerhansschen Zellen als Rezeptoren des hellen Schmerzes : Doloriceptores. *Arch. f. Derm. u. Syph.* 193, 191-250
- 13) Matumoto, M. (1942) Electricische Reizung der motorischen Einzelnervenfaser durch zwei rechteckige Stromstöße. *Jap. J. Med. Sci., Part 3. Biophysics*, 8, 93-121

Summary

It is well known that the natural excitation of nerve is usually accompanied by not a single, but a series of impulses. As to how the series of impulses can be made actually, the most simple and probable consideration may be that, in sensory nerves, the excited receptor may function as a generator to nerve fibres in such a way that its activity lasts relatively long, so that the nerve fibres are fired by the receptor repetitively. Now it is assumed that on the basis of the slow excitatory process in the receptor there may exist some slow physico-chemical process as well. The present work was done to demonstrate such a slow process by the following methods. A single pain spot of human skin was successively stimulated by two rectangular electrical currents, the constant, subthreshold conditioning (v_1) and the testing (v_2) stimuli. The voltage of the latter just enough to evoke pain sensation was measured on various time intervals between both stimuli. The obtained threshold voltage (v_2) differed from v_0 which is expected in a single stimulation. Percent differences were plotted as ordinates against time intervals. Then, this curve should indicate the rise and fall of the process induced in pain organ by the subthreshold conditioning stimulus (v_1).

Under certain condition in the case of the double stimulation mentioned above, two qualities of pain, namely, the so-called fast and the slow pains were recognized. According to each response two different sorts of the curve were obtainable. One of them (the curve of fast pain) occurs very early and passes rapidly after conditioning stimulation, while the other (the curve of slow pain) initiates lately and progresses slowly. We considered the locality where the processes which are represented by these two curves are produced. In consequence it was presumed that the late and slow process may be produced either in a element of the pain nerve ending which functions as receptor or in some unknown receptor; and also that the excitatory process in the receptor may be a slow process corresponding to the late slow curve. As to the early and rapid process, it was preliminary supposed that this may be the process caused by the direct stimulation of the nerve fibre near the receptor. From these two processes some discussions were made on the genesis of double pain.

(Department of Physiology, Tokyo Medical and Dental University Tokyo)

小腸から胃への抑制反射に就いて 612. 327. 337. 338

Studies on the Entero-gastric Reflexes.

銭場 武彦・内藤 善夫 (SEMBA-Takehiko・NAITO-Yoshio)*

小腸壁の機械的刺激又は化学的刺激による胃の運動及分泌抑制反射 [entero-gastric-reflexes (Thomas & Mogan¹³)] に於て、その反射経路に関しては異論が多い。即ち内臓神経を上行すると考えるものに Cannon & Murphy², Pearce & Liere¹⁰, Morin & Vial⁹, Herrin & Meek³ 等がある。Thomas & Mogan¹³, Thomas, Cridder & Mogan¹⁴ らは迷走神経が経路であると云い、更に又 Lalich, Meek & Herrin⁶ はその何れもが反射経路であると言う。一方には Brunemeier & Carlson¹ の central reflex の他に局所的反射が存在すると云う考もある。先きに私は腸・腸抑制反射を追及した際に、腹腔及び上腸間膜神経節を中枢とする反射の成立する事を確めた¹¹⁾ので、小腸・胃反射に於ても同様の事が成立するのではないかと考え、以下の実験を行い、その反射経路を追及した。

I. 実験方法

Urethane 麻酔犬を用い、胃及び任意の小腸片 (10~15cm 長) の運動を balloon-tambour system にて kymograph に描記する。Balloon の内圧は何れも略 10cm H₂O に保つ。刺激には 5% 食塩水を用い、之を小腸片の表面に滴下した。室温は凡そ 30°C に保ち、腹腔の保温乾燥には充分留意した。

II. 実験成績

1) 正常時：混食塩水を小腸片に滴下する時は、3~15秒の潜伏時の後、小腸は一過性に著しい緊張の増加、運動の亢進を生ずる。この時、胃の運動は、同時に、完全に消失し且緊張の減退が見られるが、約1分40秒には回復する。

2) 迷走神経切断：横膈膜下にて両側迷走神

経を、或は頸部にて両側迷走交感神経を切断した後、小腸片に食塩水刺激を加えるも、小腸→胃反射の生起にも、又その反応の大きさにも全く影響を認めなかった。

3) 大小内臓神経切断、腰部交感神経節状索摘出：両側大小内臓神経切断後に於ても、小腸→胃反射は切断前と殆んど変らずに生じた。

更に又、両側腰部交感神経節状索を摘出した後に於ても、小腸→胃反射が成立する事は第1図に示す様である。小腸片は刺激後3秒して、一過性に緊張の亢進及び運動の増大を示すが、同時に胃運動は全く消失し緊張は低下した。これは小腸の緊張が回復した後1分18秒して再び正常の胃運動及び緊張を回復した。

4) 腹腔及び上腸間膜神経節摘出：神経節摘出後は、第2図に見る様に小腸片の食塩水刺激により該小腸片は著しい緊張及び運動の増加を示すに係わらず、胃の運動及び緊張には何らの影響を及ぼさなかった。

5) 腹腔及び上腸間膜神経節に nicotine 塗布：1% nicotine (Merck) 塗布数分後、同様の刺激を小腸片に加うるに、胃の運動及び緊張には全く変化を認めなかった (第3図)。

6) 腸間膜神経遮断：小腸片に分布する腸間膜神経を全て剝離切断するか、又は5%塩酸 cocaine を塗布した後は、小腸片を如何に刺激するも、胃の運動及び緊張には何らの影響をも及ぼさなかった。

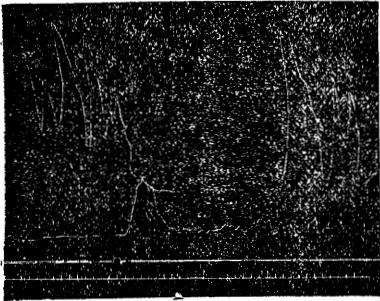
III. 考察

1) 迷走神経が抑制反射路となる事を主張したものも多い^{1) 6) 13) 14)}が、実験 (2) は迷走神経は全くこの反射には関係がないことを示した。これは腸一腸抑制反射に於て、私らの1人が既に認めた所のものである¹¹⁾。

* 広島大学医学部生理学教室

2) Pearce & Liere¹⁰⁾ (其他^{2) 3) 6) 9)} は内臓神経の反射経路を認めて居るが、実験 (3) は大小内臓神経の切断によってもこの反射は消失しない事を示した。又反応の大きさも殆んど切断の前後に於て変化を認めない。更に又腰部交感神経節状索の摘出によっても消失しないから、小腸→胃反射は中枢神経系とは関係がないと云わなければならない。この事実は腸→腸反射に於て自分が認るものと一致する¹¹⁾。

神経節に反射中枢を有する事は確かである。この様な事実は Kuntz^{4) 5)}, Warkentin et al.¹⁵⁾ の実験により支持され、また私らの腸—腸抑制反射¹¹⁾ 或は胃→小腸抑制反射¹²⁾ に於ける腹部神経節に反射中枢の存在する実験により確められるものである。同様の例は又 Langley & Anderson⁷⁾ の膀胱に於ける pseudo reflex での下腸間膜神経の役割によっても暗示されるものである。

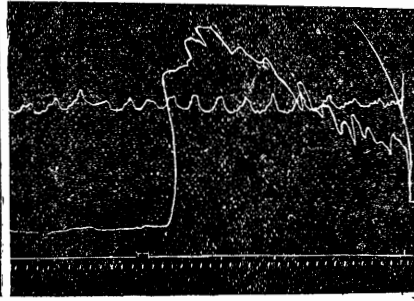


第1図

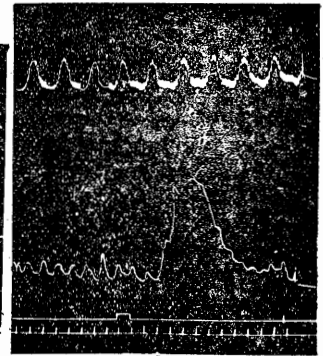
両側頸部迷走交感神経、大小内臓神経切断。両側腰部交感神経節状索摘出；副腎静脈結紮後に於ても小腸→胃反射は見られる

胃・十二指腸間には切断、小腸片 (15 cm 長) に食塩水滴下 (シグナル)

上から胃運動、小腸運動、シグナル、時間 (6 秒)

第2図 腹腔及び上腸間膜神経節摘出
小腸片 (14cm 長) に食塩水を滴下するも胃運動には変化を生じない

上から胃運動、小腸運動、シグナル、時間 (6 秒)



第3図

腹腔及び上腸間膜神経節に 1% nicotine 塗布後10分30秒して小腸片 (12cm 長) に食塩水を滴下

上から胃運動及び小腸運動、シグナル、時間 (6 秒)

3) Brunemeier & Carlson¹⁾ は local reflex をも考えたが、本実験では、常に胃・十二指腸間は切断されて居るから、腸壁内を上行する intrinsic な経路は除外される。

・4) 腸間膜神経を遮断する時は、反射は明らかに消失し (実験 6), 又腹腔及び上腸間膜神経節を摘出すれば反射は消失する (実験 4) から反射は腸壁より腸間膜神経を上行する事は明らかである。しかも内臓神経切断により消失しない (実験 3)。尚腹腔神経節に nicotine を塗布すれば反射はまったく消失する (実験 5) から、この反射はこれ等の神経節に神経細胞を有する (Langley⁸⁾) と考えねばならぬ。

5) 以上から、この反射は腹腔及び上腸間膜

IV. 結 語

Urethane 麻醉犬に於て、胃及び小腸の運動を balloon method で描記させ、小腸片に 5% 食塩水を滴下した。小腸の運動及び緊張が著しく増大する時は、反射的に胃の緊張は低下し、運動は一過性に全く消失する。この反射は両側迷走神経及び大小内臓神経の切断、腰部交感神経節状索の摘出によって消失しない。しかし腹腔及び上腸間膜神経節の摘出或は之ら神経節への nicotine の塗布、及び腸間膜神経の切断又は cocaine による遮断等によって消失するから、小腸→胃反射は之ら神経節を反射中枢とするものである。

附記 山内功氏の協力を感謝します。

文 献

- 1) Brunemeier, E. H. & A. J. Carlson (1915) Contributions to the physiology of the stomach. XIX Reflexes from the intestinal mucosa to the stomach. *Am. J. Physiol.* 36, 191
- 2) Cannon, W. B. & F. T. Murphy (1907) Physiologic observations on experimentally produced ileus. *J. Am. Med. Ass.* 49, 840
- 3) Herrin, R. C. & W. J. Meek (1945) Afferent nerves excited by intestinal distention. *Am. J. Physiol.* 144, 720
- 4) Kuntz, A. & C. Van Buskirk (1941) Reflex inhibition of bile flow and intestinal motility mediated through decentralized celiac plexus. *Poc. exp. Biol. & Med.* 46, 519
- 5) Kuntz, A. & G. Saccomanno (1944) Reflex inhibition of intestinal motility mediated through decentralized prevertebral ganglia. *J. Neurophys.* 7, 163
- 6) Lalich, J., Meek, W. J. & R. C. Herrin (1936) Reflex pathways concerned in inhibition of hunger contractions by intestinal distention. *Am. J. Physiol.* 115, 410
- 7) Langley, J. N. & H. K. Anderson (1894) On reflex action from sympathetic ganglia. *J. Physiol.* 16, 10
- 8) Langley, J. N. (1896) On the nerve cell connection of the splanchnic nerve fibres. *J. Physiol.* 20, 223
- 9) Morin, G. & J. Vial (1934) Sur le champ de l'inhibition réflexe provoquée par la distension de l'intestin. *C. r. Soc. & Biol.* 115, 1540
Du réflexe inhibiteur intestino-intestinal. *ibid.* 116, 536
- 10) Pearcy, J. F. & E. J. Van Liere (1926) Studies on the visceral nervous system. (XVII) Reflexes from the colon. (I) Reflexes to the stomach. *Am. J. Physiol.* 78, 64
- 11) Semba, T. (1954) Intestine-intestinal reflexes. *Jap. J. Physiol.* (in press)
- 12) Semba, T. (1954) Studies on the gastro-intestinal reflexes. (to be published)
- 13) Thomas, J. E. & C. J. Mogan (1930-31) The enterogastric reflex. *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.* 28, 968
- 14) Thomas, J. E., J. O. Crider & C. J. Mogan (1934) A study of reflexes involving the pyloric sphincter and antrum and their role in gastric evacuation. *Am. J. Physiol.* 108, 683
- 15) Warkentin, J., Huston, J. H., F. W. Preston, & A. C. Ivy (1943) The mechanism of bile flow inhibition upon distention of the colon or stimulation of its nerve supply. *Am. J. Physiol.* 138, 462

Summary

The reflex influence of the tone and movements from the small intestine to the stomach was studied on urethanized dogs by balloon methods.

Marked fall in tone and the complete inhibition of contractions of stomach were observed by the excitation of any part of the small intestine. The reflexes are indifferent to the central nervous system, as bilaterals section of the vagus and splanchnic nerves, removal of lumbar sympathetic chains had no effects on the response. However, the reflex effect was abolished by the application of nicotine to the coeliac and superior mesenteric ganglia, by the extirpation of abdominal ganglia and by the denervation of the mesenteric nerves. Therefore, it is concluded that the coeliac and superior mesenteric ganglia are reflex centers for the entero-gastric reflexes.

(Department of Physiology, School of Medicine, Hiroshima University)

運動時の呼吸促進について 612.76, 612.288, 612.833.2

(5) 骨格筋に於ける化学受容器

Study on Augmentation of Respiration in Exercise. Part. 5
On the Chemoreceptor in the Skeletal Muscle.

長谷川 弘・島田久八郎

(HASEGAWA-Hiromu・SHIMADA-Kyūhachirō)*

I. 前 書 き

私等はこれまでの報告^{4) 5) 7)}に引つづき骨格筋に化学受容器の有無について研究をつづけているが、今回は、骨格筋に作用させると特別の求心性衝撃を生ずる物質の種類、及びこの衝撃を伝える神経線維について調べたことを報告する。

II. 実験方法

主として蛙の坐骨神経腓腹筋標本を用い、家兎、猫も用いた。単一神経線維を分離する場合には田崎⁸⁾の記述している方法によった。用いた薬品はいずれも医薬用又は化学用に市販されているものである。

III. 実験成績

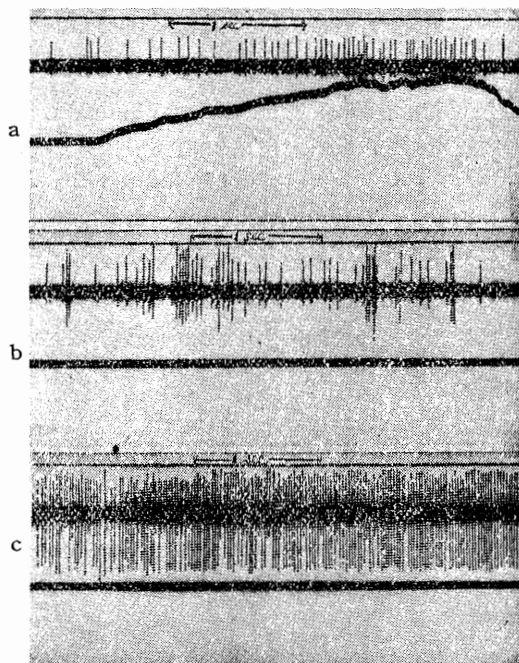
A. 骨格筋のクエン酸ソーダ衝撃を伝える求心性神経線維について

蛙の坐骨神経腓腹筋標本を作りその筋を室温で皿の中に横たえ、束のままの神経の偽作流をとってみると何等操作を加えなくとも僅かに(0~20/秒の頻度で)不規則に偽作流が出ている。この筋に10% (約 0.34 Mol) クエン酸ソーダを注ぎかけると、かけはじめてから早いものは1秒以内、おそいものでも6秒で衝撃数が増加しはじめる。次第に増強して1~3分で最高(260~330/秒)に達する。そのまま長いものは20分間放置してみたが依然衝撃が多発しているのを認めた。但し衝撃数は5~10分をすぎると減少してゆく(1例では15分で108/秒)。5分

後でまだ衝撃数が最高の時にringer液で洗うと約15分で衝撃発生はみられなくなる。

この衝撃を伝えるのはどんな神経線維かを調べるために単一神経線維を分離する操作によって1本ないし数本の神経線維を残して実験した結果は次のようになった。

1. 第1図は色々実験した中で、うまく2本だけ直径6~7 μ の線維を残すことが出来、筋の伸展にもクエン酸ソーダにも応じて衝撃を発生した例である。筋を自然のままにしておいて



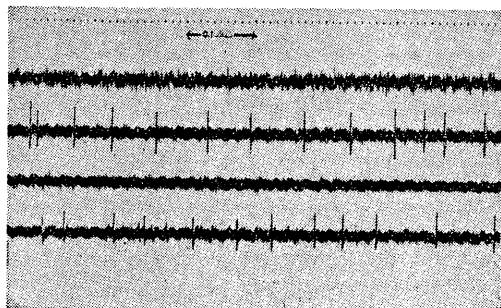
第1図

筋の伸展によって生ずる衝撃と、クエン酸ソーダによる衝撃との比較。神経線維は太さ6~7 μ のものが2本だけ残っている場合。aは筋を伸展した時。bは筋にクエン酸ソーダをかけてから1分後。cは3分後

* 新潟大学医学部生理学教室

も1秒に3~5の割合で衝撃を出しているが、この筋に張力をかけて伸展する(0から次第に30g重にまで増す)とその衝撃がaのように高さはまさないで数が増加する。これは伸展受容器からのものと思われる。この衝撃をみるとその高さが完全に一様ではないが、2本の神経線維に対応する如くはっきり2種類の衝撃にわけられることも出来ない。高さの完全にそろわない原因は不明であるが全体的にみて一種類の衝撃の数が増加したものと考えられる。これに対してこの筋に10% (約 0.34 Mol) のクエン酸ソーダをかけると、しばらく潜伏時をおいて(この図の場合約1分)自然のままでも発している伸展受容器からの衝撃に混って図のbのようにこれとは明かに異った大きな電圧の衝撃が断続して群を為してあらわれてくる。更に時間がたつと(この図の場合3分)cの如く大きな電圧の衝撃が非常にたくさん規則正しく生ずる。aとcを比較すれば両者の異ったものであることは明かである。筋をどんなに強く伸展してもこんな大きな電圧の衝撃は生じないから、この衝撃は伸展受容器とは異った何かの受容器又は神経末端から生ずるものである。又神経線維はこの場合2本しか残っていないからそのうち1本は伸展受容器につながるものであり、他の1本が化学物質に反応する神経である。束のままで偽作流をとっている時にくらべ潜伏時が著しく長いのはたまたま筋の中心部へゆく神経線維が残ったのでクエン酸ソーダがそこまで滲透するに時間がかかるためであろう。

2. 第2図は筋の伸展には反応し、クエン酸ソーダには反応しなかった神経線維の例である。この図の標本は神経線維が4本残ったものであるが、そのうち2本は太さ及びその分離部より中枢側を電気ピンセットで刺激すると筋が収縮することから運動神経と判定された。残り2本が求心性神経と思われたこの筋に20g重の張力をかけると図の上から2本目、4本目の曲線の如く衝撃を生じたが、筋にクエン酸ソーダをかけても衝撃発生はみられなかった(図の3本目の曲線)。従って伸展受容器につながる神経



第2図

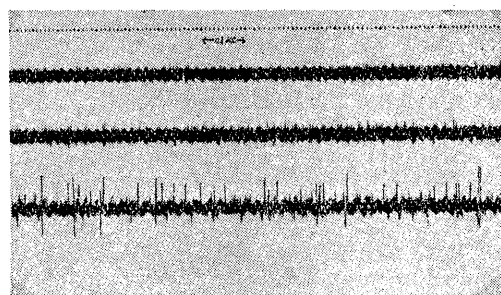
筋の伸展には反応し、クエン酸ソーダには反応しない神経線維の例。神経線維は4本残っているが、そのうち2本はその太さ及び分離部より中枢側を刺激すると筋が収縮することから運動神経と判定された。描記法は横河製電磁オシログラフのドラムを用い、光を少しずつずらして同一ドラム上に4回撮影したもの。ドラムの回転速度は毎回ほぼ等しいから時標(1/100秒)は1回目の撮影の時、同時描記した

上から正常時、筋を20g重の張力で伸展した時、10% (0.34 Mol) クエン酸ソーダをかけた時、及びRinger液で洗って3分後の伸展時(これは筋又は神経がクエン酸ソーダで傷害されるかどうかみるための対照実験)

が同時にクエン酸ソーダに反応して生ずる衝撃を伝えることはない。

3. 第3図は2と逆にクエン酸ソーダによる衝撃は伝えるが、筋の伸展には反応しない神経線維の例である。50g重の張力をかけても全然衝撃はみられず(上から2本めの曲線)、クエン酸ソーダによってのみ衝撃を生じている(3本めの曲線)。

以上1, 2, 3の実験から伸展受容器につな



第3図

筋の伸展には反応せず、クエン酸ソーダに反応する神経線維の例。神経線維は2本(いずれも太さ6~8μ)残っている。描写法は第2図と同じ

上から正常時、50g重の張力で筋を伸展した時、及び10% (0.34 Mol) クエン酸ソーダをかけた時

る神経線維とは別個にクエン酸ソーダによって生ずる衝撃を伝える特別の神経線維の存在することは明かである。

4. 多くの例についてみるとクエン酸ソーダに反応する神経線維の太さは直径 $6\sim 8\mu$ のものであった。

B. 骨骼筋に作用して求心性衝撃を生ずる物質について

はじめ動物に動脈注射をすると呼吸促進を生ずる物質をさがしてクエン酸ソーダを見出したのであるが、たまたまこれが生体内に於ける解糖過程の途中で生ずる物質によく似ていることからこれに類する物質としてグルタミン酸ソーダ、乳酸を、筋収縮に関係する物質として Acetylcholin を、又単なる水素イオン濃度の変化によるものかどうかをみるために塩酸を用いてその効果をみた。

1. クエン酸ソーダ

骨骼筋に作用させると例外なく求心性衝撃を生ずる。その経過は A でのべた通りである。濃度の閾値は $2\sim 5m\text{ Mol}$ であった。

2. グルタミン酸ソーダ

10% (約 0.59 Mol) 溶液として用いると潜伏時も、その後の経過もクエン酸ソーダの場合と殆ど同様である。この溶液をかけたまま 40 分まで放置した例もあったがまだ衝撃がみられた。

濃度の閾値は $3\sim 5m\text{ Mol}$ であった。

3. Acetylcholin

5% 溶液として用いるとすべての経過が前 2 者に比較してはやいことが目立つ。潜伏時も一般に短く一ぱんおそいものでも 2 秒以内であった。衝撃が出はじめると急激に (数秒で) 最高に達し、以後前 2 者と異って速かに衝撃数が減少する。早いものは 2 分、多くは 5 分、おそくとも 10 分後には衝撃は殆ど認められない。衝撃の消失したあとでも一旦 Ringer 液で洗ってくりかえせば前と同様の経過をとって衝撃が発生する。

濃度の閾値は $0.6\sim 0.7m\text{ Mol}$ であった。

4. 乳酸

7.5% (0.83 Mol), 3% (0.33 Mol) 溶液を用い

たが、どちらも衝撃発生の程度には大差なかった。潜伏時は $1\sim 3$ 秒で前 3 者と大差はない。その後の経過をみると最初の数秒のうちに最高に達し、以後は逆に漸減の傾向を示す。衝撃数は前 3 者にくらべはるかに数が少い (80/秒)。5 分後にみると 7.5% の場合には筋は刺激に感じなくなり、3% のものは電氣的に刺激すれば収縮するが、筋を伸展すると伸展受容器からの衝撃のうち lapid adapt の衝撃のみが残り、slow adapt のものは消失している等の点から筋が著しく傷害されていることがわかる。筋を傷害せず而も前 3 者と同様な衝撃を発生する濃度を求めてみたが、濃度が薄くなれば筋に対する傷害はへるけれどもクエン酸ソーダと同様の衝撃を発生する適当な濃度は見当らなかった。

濃度の閾値は $5m\text{ Mol}$ であった。

5. 塩酸

0.1 Mol 以下の色々の濃度を試みた。濃度がこれればいわゆる酸硬直をおこし、求心性神経に衝撃発生もみられるがこれは乳酸の場合より更に数が少く、放置すれば筋が傷害される。これにもクエン酸ソーダに匹敵するほどの衝撃発生をみる濃度はなかった。

IV. 考 按

筋にクエン酸ソーダを作用させるとそれにつながる神経に求心性の衝撃を生ずる事は高木・太田⁷⁾によって認められたが、この際先ず第一に問題となるのはクエン酸ソーダを筋にかけると筋は強い強縮をおこすし、又クエン酸ソーダは非生理的な物質だから、筋線維自身の偽作流がひびいているのではないかと、すべての神経線維或は末端が無選択に傷害される際に特殊な衝撃を出しているのではないかということである。これに対しては明かに運動神経とわかる線維 (太さ及び分離部より中枢側で神経を刺激すると筋が収縮することから) のみを残した場合には筋の伸展によっても、又クエン酸ソーダによっても全然神経に衝撃は生じないことを確かめ得たから否定出来る。又神経末端部に対する傷害とすれば一旦は衝撃が出てもやがて消滅す

る筈であるのにクエン酸ソーダで20分、グルタミン酸ソーダでは40分後でも衝撃が認められたから傷害による一時的のものでないことを知ると同時にこの受容器は適応の非常におそいものと考えられる。

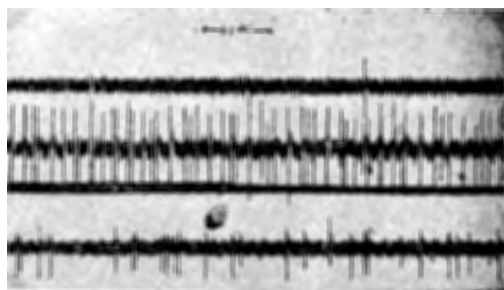
次にはこの衝撃がクエン酸ソーダによって刺激される特別の受容器から発するものか或は従来から知られている伸展受容器が強い化学的刺激によって非生理的に刺激されて衝撃を生ずるものかということが問題になる。実験Aの2, 3でみるように筋の伸展には応ずるが、クエン酸ソーダには応じない神経線維と、伸展には応じないでクエン酸ソーダにのみ応ずる神経線維を別々に分離出来たこと、及び実験Aの1のようにたまたま神経線維が2本残り伸展にもクエン酸ソーダにも応ずる場合には両者でその衝撃の性質が異なることなどから伸展受容器とは別にクエン酸ソーダに応ずる特殊な受容器又は神経終末のあることが推定される。

次に私等の用いた物質はいずれも筋に作用させると筋に強縮をおこすから、私たちの考えている受容器が直接化学的刺激に応ずるのか或は化学物質によっておこった筋の短縮によって機械的に刺激されるのかという問題がある。Granit¹⁾は筋の短縮によってその筋を支配する前角細胞の興奮性が自働的に調節されるといっているから当然短縮に反応する受容器も考えているのであろう。Harrison²⁾も筋の機械的の伸縮によって反射的に呼吸促進の生ずることをのべているが、その受容器についてはふれていない。私たちの実験では筋に対する化学的刺激と機械的短縮を分離することが出来なかったのでこの問題は仲々難しいのであるが、クエン酸ソーダ及びその他の物質を筋にかけた場合筋の強縮は一樣でなく肉眼的にもびくびく動いているのに衝撃の出方は一樣であること、ある物質(例えば塩酸)では強縮は他の物質と同様に強くおこるが衝撃の発生は僅かであることなどからみて化学的刺激に直接反応するものと考えている。

次に私たちの用いた物質のはたらき方につい

て考えてみると、クエン酸ソーダとグルタミン酸ソーダが最も効果が強くその働き方が殆んど同じである。Acetylcholinも同様に強い効果をもっているが非常に経過が早いのは組織の中へ入った場合分解されやすいからであろう。乳酸は前3者より効果が劣る上、濃度をますと筋を傷害する。塩酸はpHからいえば非常に低いのに衝撃発生は乳酸より更に少いからこの受容器が単なるpHの変化で刺激されているのでないことは確かである。併しクエン酸ソーダその他の物質の間に少しずつ作用し方にちがいがあることやこれ等の物質そのものにどんな生理的意義があるかについては現在のところ全然不明である。

それで実際筋が収縮する際にこの受容器を刺激する物質が出来ているかどうかみようと筋をRinger液の中で電氣的に刺激した際の神経衝撃をしらべてみた。筋を長く電氣的に頻数刺激するとその直後に筋収縮がやんだあとまで第4図(2本め)のように衝撃が残って居り、



第4図

筋を頻数刺激で刺激して強縮をおこさせると刺激をやめた直後にみられる求心性衝撃。描写法は第2図の場合と同様

下から正常時(いくらか衝撃が出ている)、刺激をやめて数秒後、及び30秒後

時の経過と共に速かに消失する(30秒後が1本め)。従ってこの受容器は筋収縮による生理的中間産物にも反応するものと思われる。長時間つづかないのはすぐに更に分解が進んで無効物質に変るためであろう。塩酸でも衝撃を生じたのは塩酸の直接作用ではなく、筋が強縮をおこした為間接に刺激された為と考えられる。

以上は切出した筋について行った実験である

が、生体内ではどうかと考え、猫・家兎を用いてウレタン麻酔 (*Pro kg* 0.5g) のもとに下肢筋につながる神経から偽作流をとりながら股動脈に10%クエン酸ソーダを注射してみた。注射しはじめてから3~4秒で衝撃が出はじめ、漸増して2~3分で最高に達しそのまま約5分間つづいて再び漸減していった。前に私たちがやったクエン酸ソーダ動脈注射の呼吸に対する影響をみた実験^{5) 6)}とくらべると衝撃の出はじと呼吸促進のおこりははじめは時間的に大体一致しているが、終りの時間が大分くいちがっている。この原因はまだわからないが、とにかく蛙の筋で得た結果は温血動物にも適用出来ることがわかる。

これ等のことからこの受容器は生理的にも働いているものと考えられ、前の報告⁵⁾でふれた筋からの反射性呼吸促進機序の一環を為すものと考えられる。

V. 結 論

蛙の坐骨神経腓腹筋標本の筋にクエン酸ソーダを作用させると坐骨神経に求心性衝撃を生ずる。

単一神経線維を分離して検すると、クエン酸ソーダによって生ずる衝撃のみを伝える太さ6~8 μ の特殊な線維が存在する。従っておそらくこの衝撃を発生する特別の化学受容器が骨格筋内に存在するのであろう。

この受容器はクエン酸ソーダ、グルタミン酸ソーダ、Acetylcholin、乳酸に反応するが、単なるpHの変化には反応しない。又以上の物質

の各々によって単位時間内の衝撃数が異り、持続時間も異なる。

筋を電氣的に頻数刺激して長く強縮をおこせると、収縮がやんだあとまで神経に衝撃が出ている。従ってこの受容器は筋収縮の際に生ずる物質によっても刺激されるものと思われる。

家兎、猫で生体内のままでも動脈注射によって筋にクエン酸ソーダを作用させるとそれにつながる神経に衝撃を生ずる。

クエン酸ソーダ、グルタミン酸ソーダ、Acetylcholin、乳酸等の生理的意義は不明であるが実際の筋収縮の直後にも神経に衝撃をみることからこの受容器は生理的にも働いているものと考えられる。

文 献

- 1) Granit, R. and G. Ström (1951) Autogenetic modulation of excitability of single ventral horn cells. *J. Neurophysiol.* 14, 113-132
- 2) Harrison, M. D. (1936) Failure of the circulation. Baltimore.
- 3) 長谷川 弘 (1947) 運動時の呼吸促進について (第1篇) CO₂による呼吸の刺激生理学的研究 日本生理誌 10, 206-215
- 4) 長谷川 弘 (1947) 運動時の呼吸促進について (第2篇) 運動時の呼吸調節はCO₂によるか 日本生理誌 10, 216-223
- 5) 高木健太郎・長谷川 弘 (1950) 運動時の呼吸促進について (第3篇) 筋よりの反射性呼吸促進について 日本生理誌 12, 243-251
- 6) 高木健太郎・長谷川 弘 (1951) 運動時の呼吸促進について (第4篇) 人体に於ける枸橼酸ソーダの動脈注射による呼吸促進 日本生理誌 13, 381-384
- 7) 高木健太郎・太田三郎 (1953) 筋の化学受容器 日本生理誌 15, 226-229
- 8) 田崎一二 (1944) 神経繊維の生理学 河合商店 昭和19年4月25日発行

Summary

On the gastrocnemius-ischiadicus preparation of frog, we have obtained the bombardment of action potentials from sciatic nerve bundle, during the muscle was immersed in 10% sodium-citrate Ringer solution. Now the response of individual nerve components have been isolated and analysed by use of single nerve isolation method, and it was disclosed that there were some particular components which carry the afferent impulses originating from the chemically stimulated muscle, perhaps from some specific chemoreceptors.

These chemoreceptors are stimulated by sodium-citrate, sodium-glutamate, ace-

tylcholin and lactic acid, but not by change of pH. The frequency and generating duration of these impulses are different from each other. As to sodium-citrate the duration of these impulses was beyond 20 minutes. A few minutes outburst of similar action potentials were found in the sciatic nerve on cessation of prolonged faradic stimulation of M. gastrocnemius. So it is most probable that these chemoreceptors are stimulated by the chemical substances produced normally by muscular contraction.

On rabbits and cats similar afferent impulses are also originated in sciatic nerve by arterial injection of sodium-citrate Ringer solution into femoral artery.

(Department of Physiology, Med. Faculty, Univ. of Niigata)

蛋白質代謝と基礎代謝との関係 612.398.2

(第1報) 蛋白摂取量と基礎代謝量との関係に就いて

Correlation between the Protein and the Basal Metabolism. (Part 1.) On the Relation between the Dietary Protein Level and the Basal Metabolism in Human Subjects.

井 上 五 郎 (INOUE-Goro) *

I. 緒 言

生体のエネルギー代謝は、熱産生を刺激する大きい因子、例えば筋活動、食餌摂取或は寒冷曝露等からの影響を除く事によって、それを最低レベルに迄減ずる事が出来る。即ち早朝空腹時で絶対安静の条件では生体内にはその生命を維持するに足る最小の熱産生が行われて居るのであって、之は「基礎代謝量」(basal metabolism)、或は“standard metabolism” (Krogh), “post-absorptive metabolism” (Benedict) 等と呼ばれて居るが、DuBois¹⁾ の云う様に、斯うした最低エネルギー発生量が主に組織の活動性原形質の朽きの結果として招来せられるものであるとするならば、通常通り之を「基礎代謝量」と呼ぶ事がより妥当であろうと思われる。

処が一方、生体内に於ける蛋白代謝も、体内窒素の分解を促進する様な因子を除く事によって之も又最低レベルに迄減ずる事が出来るであろう。但しこの場合は筋活動、寒冷その他の刺激はその影響が著明ではなく、その大部分が摂取蛋白量自体によって左右されるものであり、若しも食餌性窒素を零或はそれに近く極度に制限し、然も熱量源だけは充分供給して体蛋白の異常分解を防いでおくならば、尿中に排泄される総窒素量は、熱産生の場合同様に之も亦最低レベルに迄減少して来るであろう。既に早くFolin²⁾はこの点を指摘して居り、こうして得られる最低窒素排泄量を「内因性窒素代謝量」(endogenous nitrogen metabolism) と名付け、食餌性窒素の体内分解に由来する「外因性窒素代謝量」(exogenous nitrogen metabolism) とは

意義を全く異にして居り、之は専ら生命維持のための組織構成蛋白質の基本的営みの結果としての異化量、即ち“tear & wear quota” (Folin) を表わすものであると云う。更に Folin は尿排泄窒素成分のうちで、尿酸、中性硫黄化合物 (窒素化合物ではない)、殊に creatinine が食蛋白量に無関係に恒常値を示す事から、之等諸量が内因性窒素代謝過程のみによって産生されるものであると考えている。

以上の様に考えて来ると、前者即基礎代謝量は、その原形質を構成する物質の化学反応により遊離されるエネルギーの最低量であり、後者即ち内因性窒素代謝量も又同じく原形質の窒素構成成分の分解最低量なのであって、前者は生体組織の全異化過程の総和最低値の表示であるに対し、後者は窒素を含んで居る特定物質の最低分解量の表示である。従ってこの2つの代謝量は対象とする物質の種類と範囲に相違こそあれ、何れにしても両者が共に生体細胞の基本的代謝活動の結果を現わしている重要な指標である事に変わりはない。換言すれば、之等両者は原形質機能と云う1つの基盤に基いた二面現象であると理解され得るのであり、ここに於て両者の間には直接的な或は間接的な何等かの相関関係の存するのである事が予測され得ると同時に、又逆に両者の関係を追求する事は原形質の機能を探る上の有力な一手段となり得るであろう事も考えられるのである。

勿論これ等の事は古くから注目せられて来た処であって、両者の関係についても数多くの研究が行われて居る。然し乍ら従来の研究の殆んど総てが正常状態に於ける両者の関係にのみ注目して、その場合に於ける両者の関係を簡単な

* 京都府立医科大学生理学教室

相關々係式に導こうと努力したものであり、就中 Smuts³⁾ 或は Talbot⁴⁾等の業績はこうした一連の研究の代表的なものであると云えよう。唯若干の研究、例えば Krogh⁵⁾、Deuel⁶⁾等によって低栄養時に於ては基礎代謝量も又低値を示すものである事が報告せられ、又逆に高蛋白食時には高値をとる事が知られている (Van Slyke⁷⁾)。併し此等食餌蛋白量と基礎代謝量との関係に就いての考察は甚だ抽象的な推論の程度に止まるものである。殊に内因性窒素代謝と基礎代謝との関係に於て最も興味を唆られる点は、これ等両者が組織細胞の基本的活動の二面現象であるとする以上、この細胞活動の変動を伴う様な生活条件の変動の存する場合に於て両者がどの様な態度をとり、どの様な関係を維持して行くかと云う点である。残念乍らこうした立場に立つての組織的な研究は殆んど見当たらない。

以上の観点に立って、著者は基礎代謝と内因性窒素代謝との中、何れか一方が変動する場合他方がどの様な態度をとるかを追求し、併せて両者が細胞機能とどの様な関連を有して居るかに就いて検討しようと試みた。

そこで実験を2段に分ち、第1段に於ては摂取蛋白量の変動に伴う細胞活動の変化の有無を基礎代謝の動向を指標として観察し、又第2段として恐らくは組織の原形質活性の変化を意味するのであろう基礎代謝の季節変化が、蛋白代謝就中内因性窒素代謝とどの様な関係を持っているものかを追求しようとした。

本第1報に述べるのはこの内の第1段の実験の成績である。

II. 実験方法

健康な3名の実験室作業員及医科学生 (年令21~41年、男子) を被検者とし、昭和22年10月より昭和23年8月に至る間、主に夏期或は冬期を選んで前後8回に互り栄養試験を繰返し行つた。実験全期間中被検者は研究室に起居させたが、その他は出来るだけ日常勤務に近い状態を保たせる様に努めた。

蛋白負荷試験の要領は、同門の山本⁸⁾が既に

詳記しているのでここでは要点のみを記す。即ち実験開始時は熱量 2400kcal、蛋白質 75g (うち動物性蛋白25%含有) で微量栄養素の配分を充分考慮した標準食を7~10日間与えて体重及び窒素平衡を略々一定に落着かせて、蛋白代謝を標準状態に規正せしめた。その後、熱量はそのままとし蛋白量のみを低蛋白食 (40g/日) 又は25g/日、乃至は高蛋白食 (200g/日) と云う様に変化させた。又時に最初高蛋白食 (125g/日) を一定期間与えた後に低蛋白食 (25g/日) に変化させた場合もある。何れも各食期の期間は多くは2週間又はそれ以上継続して諸数値の変動を充分観察した後に次の食期に移る様にした。そして最後に標準食と同様の食質の恢復食乃至は規正食を与えてその恢復の有様を検した。尙蛋白給源としては低蛋白食 (25g/日) の場合は殆んど白米のみ、低蛋白食 (40g/日) の場合は之に甘藷が加わり、標準食 (75g/日) の場合には白米と煮干の蛋白が主である。又200g/日の高蛋白食の場合は標準食蛋白量に更に煮干を負荷した動物性高蛋白食と大豆粉を使用した植物性高蛋白食の2種類とした。125g/日の蛋白食の場合には標準食にカゼイン粉を混ぜてその蛋白量を増加させた。

斯うして著者は此等の栄養実験に於て、その窒素出納、尿中 creatinine 排泄量、基礎代謝量を逐日測定し、食蛋白量の変化に基く基礎代謝量の変化を観察した。この外体重其他の一般症状にも絶えず注意を払った事は云う迄もない。

次に此等諸項目測定法の概要を述べる。先ず尿検査の方法を述べると、尿は毎朝8.00時を界として1日全尿を採集し、トルオールを添加して冷暗貯蔵し、そのサンプルについて色々の測定を行つた。先ず窒素量の測定は半微量 Kjeldahl 氏法により測定しその窒素濃度を1日尿量に乗じて1日排泄総窒素量を算出した。一方毎食期の始めと終りで各3~4日間の大便全量を採取し、これを乾燥碎粉して同様に窒素量を測定し、又他方食品についても毎食期毎に献立通りの実物見本を1日分調製して之を乾燥碎粉しその窒素含有量を実測決定した。そして之に夫

々の粉末総量を乗じて夫々1日平均の糞便窒素量、或は食品窒素量を算出した。尙これを蛋白量に換算するには窒素量を6.25倍して求め、又窒素出納の検討は(尿N排泄量)と(食餌N量-糞便N量)との差として計算した。以後の記述に於て便宜的に前者を「排泄N量」、後者を「吸収N量」として取扱う場合があるから念の為附言する。

尿 creatinine 量は比色法によったが、発色条件として Folin 氏法を用い、出来るだけ即日の新鮮尿に就き、creatinine 規準液による対照液を毎回新製し Dubosque 比色計を用いて測定した。

基礎代謝の測定に際しては、食事時間、睡眠等の基礎的生活条件を出来るだけ一定に守らしめ、研究室室内測定室に宿泊せしめて翌朝覚醒時、午前7~8時の間に寝台に横たわったままの状態に測定した。室温を特に一定値に規正する事はしなかったが、併し快適な夜具気候の中で測定したのであるから環境気温自体の影響はないものと思われる。又この測定に際しては呼吸は呼吸弁及 Douglas-bag を用いて各6分間宛3回採取し、その一部を労研式瓦斯分析器に移して分析した。得られた測定値は3回値の平均か、或は異常と思われる値(第1回目採取呼吸の測定値は往々高値を示し易かった)を除いた2回の値の平均値として求めたものである。又瓦斯採集中被検者は睡眠に陥り易いものであるが、絶えず覚醒状態を保つ様注意を払った事は勿論、もし睡眠に陥った事が確められた場合には測定をやりかえす事にした。

以上の外、体重変動を知るため、毎朝基礎代謝測定直後の条件で之を測定記録し、又体温、脈数、血圧、時には血液性状をも検査し、その全身状態の推移にも注意を払った。但し此等は別にまとめて報告してあるからここには省略する⁹⁾。

Ⅲ. 実験成績

A. 低蛋白食攝取による尿窒素排泄量並に基礎代謝量の変動

(第1図)は蛋白摂取量を標準量75g/日から

40g/日とした場合であり、(第2図)はそれを25g/日とした場合であって、夫々窒素代謝と基礎代謝との関係を代表的な1例について図示したものである。

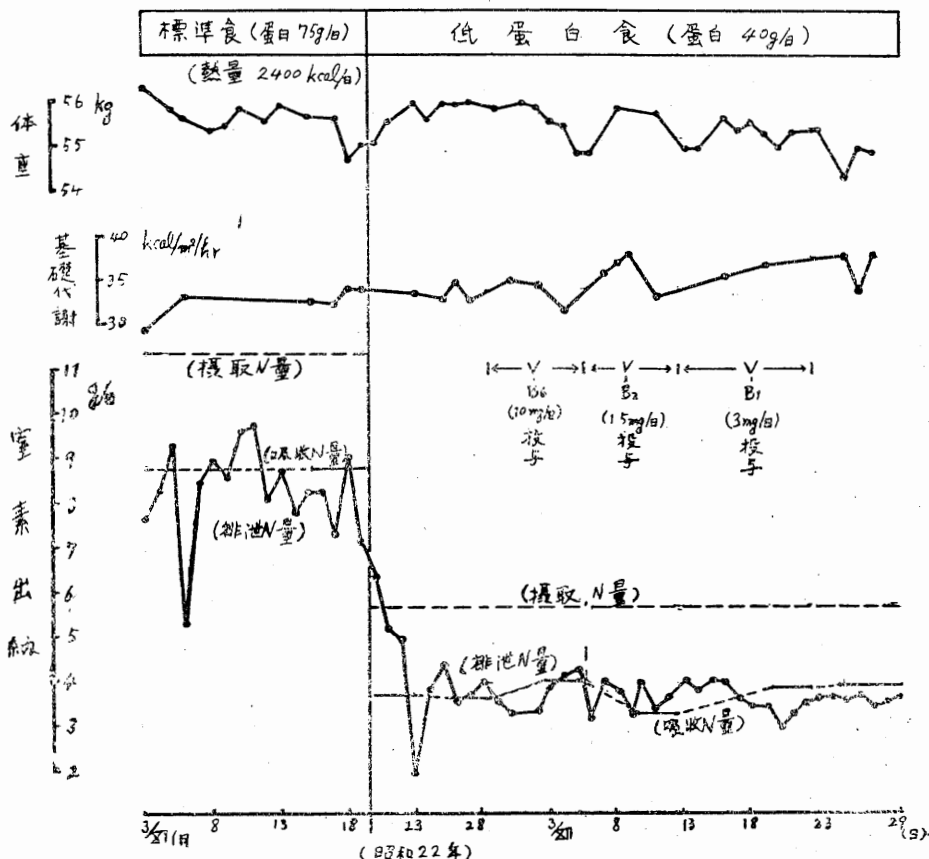
先ず蛋白代謝の変化について述べると、食蛋白量を標準蛋白摂取量より40gレベルに変えた場合も、亦25gレベルとした場合も、何れもその尿の窒素排泄量は直ちに一定レベルに低下するのではなく、食蛋白量を切換えると共に尿N排泄量は漸減してこれに適應しようとする。かくして7日又は10日を経てその低下は一応新しい排泄レベルに落着き、以後はそのレベルは可成り安定した平衡を保って経過して行く事が認められる。従って低蛋白食の初期には負出納を示した蛋白出納も漸次零出納に近づく。そして食餌蛋白量40gの場合ではこの新しい尿N排泄レベルは第10日目以後全期間(31日間)平均3.57g/日であって、之は食品N量から糞便N量を差引いた吸収N量(前項参照)のレベルが平均3.71g/日であるのと比べると、窒素出納は略々零平衡を保っているのである(第1図参照)。之は植物性蛋白のみの蛋白摂取量40g/日で人体は窒素出納零平衡を保ち得たという Hegsted等¹⁰⁾の成績とよく一致していると云えよう。処が摂取量が一段と低下して25g/日となった場合は(第2図参照)、この尿排泄レベルは1週間後から略々平衡に達し得るのではあるが、そのレベルは平均2.88g/日であって、吸収Nレベル2.02g/日と比べて0.86g/日高く、従って窒素出納は可成り著明な負状態の儘経過するのである。この場合腸壁より吸収される窒素源はすべて良質の米蛋白である上、一般に蛋白供給の乏しい場合に於ては生体の窒素源利用度が高まっているのであるから(Rittenberg)¹¹⁾吸収された量はすべて一応体蛋白に合成されるものと考えられ、従って尿中に排泄されるN成分2.88g/日と云うものはすべて組織構成蛋白の崩壊に由来するものであって、所謂 Folin の「内因性窒素代謝量」か、或は少くもそれに近い量として受取って宣しいと思われる。

以上の様に摂取蛋白レベルを40g又は25gの

2段に分って低下させた場合、前者では軽度の体蛋白消耗が初め数日間に見られるだけで、その後は零出納を保って行くのであるが、後者では初期に於ける大量崩壊は別としてN排泄が組織蛋白崩壊量に略々等しい量に迄減少して来た後に於ても尚ほ1日平均 0.86g に相当する体蛋白が連日崩壊脱失している事となるのである。この様に低蛋白量 40g と 25g とでは、摂取N量として僅か 2g 強の差に過ぎないにも拘らず窒素出納の上では一方は体蛋白崩壊を免れ、他方では日々可成りの程度のN脱失が続くと云う著明な差異として現われるのであって、こうした蛋白代謝上の大きな相違は同時に測定した基礎代謝の成績にも判っきりと見る事が出来るのである。

そこで先ず (第1図) 低蛋白食 40g の場合の基礎代謝量の変化をみるに、標準食摂取時の基礎代謝量は単位体表面積当たり1時間値で平均 32.9 kcal であるが低蛋白食に移行した後は徐々にあるが上昇の傾向をたどり窒素出納が零平衡に達した頃では平均 33.5 kcal/m²/hr の値を、更に試験末期となると平均

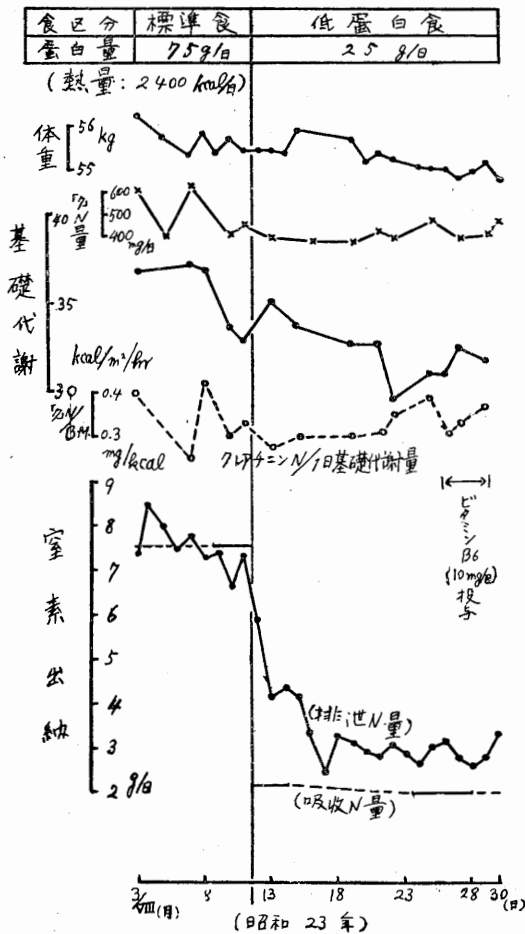
36.0kcal/m²/hr と標準食時に比べて約 9 % の高値を示すようになった。こうした基礎代謝値の上昇の原因としては、低蛋白食期間中に図示した通り、ビタミン B₁, B₂ 及 B₆ を投与した事の影響も考慮しなければならないが此等は基礎代謝に対してそれ程著明な影響のない事は著者等の別の実験で明かである。それよりも大切なのは基礎代謝の季節変動である¹²⁾¹³⁾。即ち今回の試験期間は丁度11月初めから12月末に亙る向寒の季節に相当し、教室の福田¹⁴⁾の業績によってもこの時期に基礎代謝量の上昇する事が明かである。然もこの成績に於ても代謝量の上昇は逐次的階段的であって、これは季節変動のためと解釈するならば極めて妥当である。そして一般に成人に於ける基礎代謝の季節変動は約10%附近と考えられている¹²⁾から、若し本例に於てもこの程度の変化が起るとすれば、基礎代謝量は



第1図 低蛋白食 (40g/日) 時の窒素出納と基礎代謝 (その1) 被検者: 吉村 (40才, 男)

この場合食蛋白量の変動には影響されないで、寧ろ気温変動に従って正常の生理的適応を示したに過ぎぬと云えるであろう。以上と同様の成績は同一期間同一条件で実施された他の1例についても証明せられた(第1表参照)。何れにしても40gで零出納の維持出来る程度の低蛋白食を続けても、標準食の時に比べて基礎代謝量は著しい変化、就中予想される様な低下の傾向は認められなかったのである。体重の減少も又この様な低蛋白食では明かでない事も印象的である。

然るに蛋白制限が更に一般と厳しい25g/日の場合になると、基礎代謝の態度は著しく変わって来る。即ち(第2図)は前例と同一被検者に



第2図

低蛋白食(25g/日)時の窒素出納と基礎代謝(その2)
被検者: 吉村(40才, 男)

就いて蛋白制限を25gとした場合(時期は7月初めより末日に亘って)であるが、標準食時平均35.6kcal/m²/hrの値を示す基礎代謝量は、低蛋白食に移ると摂取カロリーは充分であるにも拘らず僅かに減少の傾向を辿り、遂に第11日目では急激な低下を認め、それ以後著明な低下が続く、試験末期は平均30.6kcal/m²/hrで標準食時より実に14%の低下を示すに至るのである。一方体重の減少もこの基礎代謝の低下する頃、即ち第10日目以後に於て著明となる事が多いのであるが、本例に於ては低蛋白食移行後一時浮腫が発生したため、この関係は少々乱されてはいるが、併しその低下の傾向が併行して現われている事は認められる。尚本例に於ては低蛋白食の末期にビタミンB₆を1日当り10mgずつ与えてその基礎代謝に及ぼす影響を見たのであるが、殆んどその影響を認めなかった。

(第1表)はこうした低蛋白摂取に基く基礎代謝の変動を一括表示したものであるが、低蛋白食25g/日の6例に於て(前述例をも含む)上記の関係が何れも認められるのであって、多くは低蛋白食移行初期に於てはその変化は目立たないが低蛋白食が進んで10日前後になると、その低下を判っきり認める事が出来る様になり低蛋白食開始後2週間に於ては10%前後、中には18%にも達する著明な減少が起るのである。この時の体内窒素喪失全量は平均19.3g(121g蛋白相当量)である。

この様に摂取蛋白量の低下が40g/日の場合は40日間を経過するも基礎代謝量は低下しないにも拘らず、25g/日では約10日後に於て明かに低下すると云う事実は甚だ興味のある処であって、この差の原因としては先ずこの場合の体内窒素脱失量即ち体蛋白消耗の程度の差を考えねばならない。即ち図の例に於て低蛋白食40gの場合には低蛋白食初期の負出納によって僅か4.9gの窒素が脱失したに過ぎないに対し、25gの低蛋白食の場合に於ては最初6日間で既に11.3gの体内窒素を消失し、この頃はまだ基礎代謝の著明な変化はないが、更に低蛋白食による負出納が続いて第11日目に於て窒素量にして

総量15.8g, 蛋白量にして約 100g の体窒素成分が消耗して来る頃となると始めて基礎代謝の低下が明かに認められたのである。これと同様の事が他の例にも認められる事は (第1表) に明かであろう。元来基礎代謝は Benedict の所謂活動性原形質量に関係したものであるが、以上の事は結局次の様に考える事が出来る。即ち摂取する蛋白量

が乏しくて体

蛋白の消耗の起る場合に、

これは直ちに

活性原形質に

逆影響がおよ

ぶものではな

く、その消耗

量が 100g 前

後に達すると

始めて活性原

形質機能、従

って恐らくこ

れを構成する活性蛋白質 (酸化に係る蛋白) に逆その消耗が及んで酸化現象の低下を来してくるのであろう。

この様に基礎代謝量の変化が原形質活性蛋白の態度に関するものである事を考えさせる今一つの事実として次の事が挙げられる。即ち著者は組織蛋白代謝の代表的指標とされる尿 creatinine 量を測定し、これが食質変化につれて如何様に変化するかに就いて検討した。その結果は (第2図) に示す様に creatinine 排泄量は基礎

代謝の変化と大体として平行する傾向を示す。従って creatinine と 1 日総基礎代謝量との比、即ち 1 kcal 当りにたいする creatinine N 量 (mg/kcal) を求めると、その値は標準食、低蛋白食の各食期並にその経過に無関係に略々一定の値を示している。この関係は単に 1 例だけではなく、(第2表) に示した様に多数の実験に於

第1表 低蛋白食による基礎代謝の変化と蛋白脱失量

蛋白の消耗の起る場合に、	食蛋白量	被検者	期間 (低蛋白期間)	基礎代謝量			② 体内窒素脱失量 (g)
				標準食期 (kcal/m ² /hr)	① 低蛋白食末期 (kcal/m ² /hr)	同右低下率 (%)	
これは直ちに活性原形質に逆影響がおよぶものではなく、その消耗量が 100g 前後に達すると始めて活性原形質機能、従って恐らくこ	40 g/日	{ 吉村 谷村	昭22年3/Ⅺ~29/Ⅺ(40日)	32.9	36.0	+ 9	0.6
			同 年3/Ⅺ~29/Ⅺ(41日)	③34.8	35.0	+ 1	6.2
	25 g/日	{ 吉村 谷村	昭24年28/Ⅰ~19/Ⅱ(14日)	37.4	33.4	-18	28.6
			昭23年 3/Ⅷ~15/Ⅸ(29日)	35.6	※30.6	-14	18.6
			昭24年20/Ⅰ~ 3/Ⅴ(14日)	37.5	※33.6	- 8	26.8
			昭23年27/Ⅶ~ 7/Ⅸ(18日)	32.8	※29.8	- 9	10.7
			昭24年20/Ⅰ~26/Ⅲ(15日)	35.2	※32.5	- 8	22.4
			昭23年27/Ⅶ~ 7/Ⅸ(23日)	32.0	※28.8	-10	8.8
	備考	{ 千早 平	平均	34.9	31.5	-10	19.3
			① 低蛋白食移行2週間前後の値を示し、低下率は之と標準食時との値の差を%で示した				
			② 低蛋白食第1日目を以降、40g/日の場合は全40日間、25g/日の場合は14日間の N 出納総和を示す				
			③ 昭和23年11月普通食餌の場合の値を示す				
			※ 標準食時値と低蛋白食末期値との差が推計学的に 5% の危険率で有意であるものを示す				

でも認められた事実である。従って低蛋白食時の creatinine 排泄量は基礎代謝と平行した変化を示す事は確かと思われる。そして creatinine は Folin の唱導した内因性窒素成分の代表的なものであるが、Folin は原形質成分の基本となるべき蛋白の代謝産物がこの内因性窒素成分であり、その他の成分は外因性の蛋白の分解産物であると述べている。この説の当否は別として内因性窒素成分の排泄量が僅かな外的生活条件の変化や食蛋白量の変化によって直ちには変化

第2表 低蛋白食餌による基礎代謝量と尿 creatinine 量の減少比較

被検者	実験期日	標準食餌			低蛋白食餌		
		基礎代謝 (kcal/m ² /hr)	① creatinine N 量 (mg)	② ㏍N/B.M. (mg/kcal)	基礎代謝 (kcal/m ² /hr)	① creatinine N 量 (mg)	② ㏍N/B.M. (mg/kcal)
吉村	{ 昭和23年 8月	35.1	496	0.36	30.6	431	0.35
	{ 昭和24年 3月	36.9	510	0.36	33.6	454	0.34
千早	{ 昭和23年 8月	32.0	498	0.43	28.8	339	0.33
	{ 昭和23年 8月	32.8	541	0.43	29.8	382	0.36
井上	{ 昭和24年 8月	34.5	518	0.43	29.7	416	0.40
	{ 昭和24年 8月	33.5	556	0.46	29.1	428	0.41
平均		※34.1	⊗520	△0.41	※30.2	⊗408	△0.37

備考 ① 測定して得られた creatine 量に 0.372 を乗じ、N 量 (mg) として表わす

② creatinine N 量を 1 日総基礎代謝量で除した値を示す

※, ⊗ は 5% の危険率で有意の差のあるもの、△あるものは無意なものを示す

しない事は一般に認められた事であり、又事実 creatinine 排泄量は、低蛋白食への切換えと同時に直ちに下るものではない。従ってこれは原形質蛋白の比較的安定な成分の代謝産物である事に疑はない。そしてこの内因性窒素成分が基礎代謝量の変化に伴って変るのであるから、原形質の含む基礎的な酸化現象はその活性蛋白の窒素代謝に関係し、蛋白欠乏によって活性蛋白の代謝が低下すればこれに伴ってその酸化現象も又減ずると理解すべきであろう。

以上要するに食餌性蛋白の供給が減少した場合にはその欠乏の度に応じて体蛋白の消耗が起るが、この場合消耗が軽度ならば基礎代謝量には変化が現われず、体蛋白消耗が 100g 附近に

達すると基礎代謝量の変化も顕著に現われて来る。之は組織蛋白の消耗が強くなればその消耗が原形質の酸化現象を営む蛋白に及んでその蛋白代謝を減ずる事に恐らくは基因するものであらう。

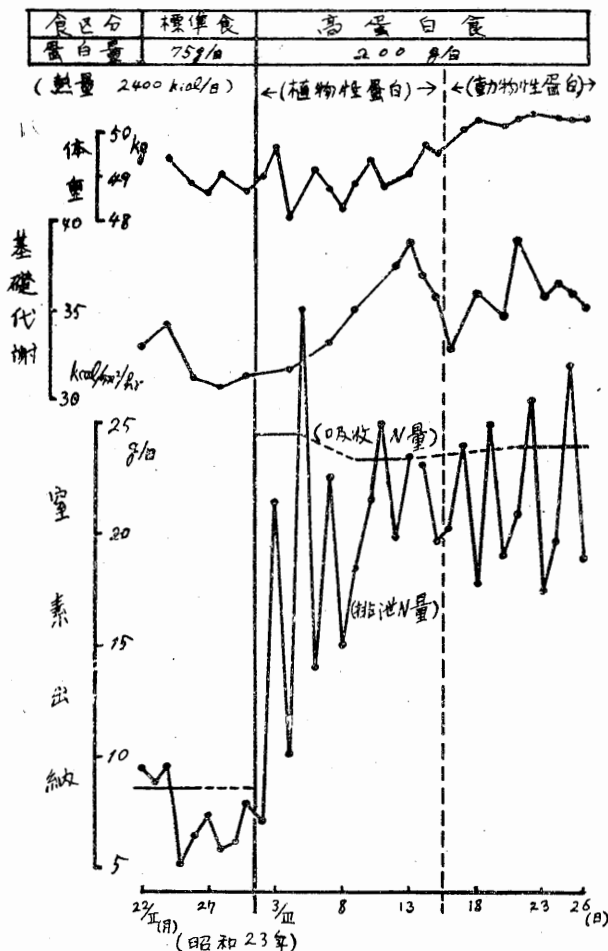
B. 高蛋白摂取による尿窒素排泄量と基礎代謝の変動

以上低蛋白食によって基礎代謝量が低下し得る事を知ったが、高蛋白食に於ては果して上昇するであろうか。又上昇するとすればそれは蛋白代謝とどのような関係にあるかを検討する事は甚だ興味のある事である。

(第3図) はこの目的のために行われた実験の1例を図示したものであって実験は先ず標準

食を9日間としてその蛋白代謝を正常に規正した後、蛋白摂取レベルを初め植物性の、次に動物性の高蛋白 200g に昇せた。然るに尿N排泄量はこのような急激な蛋白過剰摂取に直ちに應じ得ず、略々零出納の平衡状態に達するのに9日間を要して居りこの間体内蛋白貯当 352g に及んで居るのである。

一方基礎代謝は高蛋白食の初期には殆んど変化なく、高蛋白食10日以後漸く体内蛋白貯当が飽和限界に達した頃に於て上昇が著明となっている。そしてその後は標準食時の $32.2\text{kcal/m}^2/\text{hr}$ に比べて15%高値の $36.9\text{kcal/m}^2/\text{hr}$ を示すのである。この様に基礎代謝の上昇が時期的「ずれ」を示すのは、初め植物性高蛋白食であったと云う食質によるものでない事は、他の例で初めに動物性高蛋白食を負荷した場合に於てもその上昇に一定期間を要した事からも理解せられる。又之が食蛋白過剰に基因する特異力学作用の亢進に基くものでない事も、高蛋白食摂取の初期には基礎代謝の上昇を認めない事から明かであろう。そしてこのような基礎代謝上昇に要する「ずれ」の期間は体内蛋白貯当が飽和に達する期間に相当するものであって、体重増加が上昇の限界



第3図 高蛋白食(200g/日)時の窒素出納と基礎代謝
被検者: 千早(22才, 男)

に達する時期もこれに略々一致しているのである。

著者はさきに低蛋白食が或る程度長期に及べば遂には原形質の活性蛋白が消耗して原形質の酸化現象を減じ、基礎代謝の低下を来す事を見たのであるが、高蛋白食を続けた場合の基礎代謝の上昇もこれと同様に考えて原形質の活性蛋白が増加した為と考える事が出来る。そして先に述べた様にこの原形質蛋白は化学的に比較的安定であるから、高蛋白食を与えても直ちにはその同化合成が増加せず、或る程度体内に蛋白が蓄積し、これが殆んど飽和に近くなって始めてここに原形質の活性蛋白の蓄積が起って来ると解す可きであろう。この様な考えは高蛋白食時の creatinine 排泄量の成績によっても支持せられる。即ち (第4図) に示した実験は低蛋白食と高蛋白食とを交互に与えてその蛋白の蓄積と奪失の量的関係を調べたものであって、既に田中¹⁵⁾によってその成績の一部が報告されている。

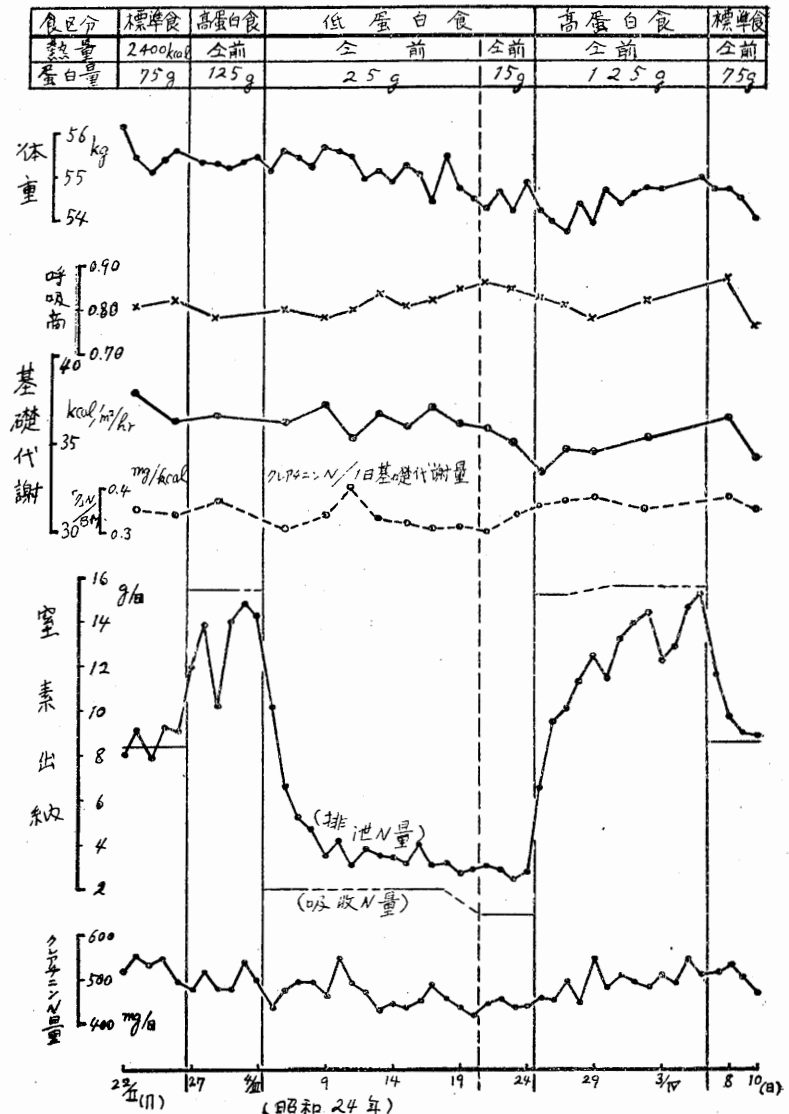
本実験に於て基礎代謝量と creatinine 排泄量を測定した処、図示の様にこの両者は可成りよく平行した変化を示し、従って両者の値は食質の変化に関せず一定である。

即ち 25g/日の低蛋白食後に 125g/日の高蛋白食を与えると蛋白が若干蓄積した後から段々と基礎代謝が上昇して元値に回復しているが creatinine

排泄量もこれに伴って回復している。従ってこの場合の基礎代謝の上昇も又内因性窒素代謝の上昇に伴ったものであり、それは又原形質の活性の高まった事による密接不可分の二面現象であらうと思われる。

IV. 考 察

以上の成績によれば、食餌性蛋白の供給が制限されて体蛋白の消耗を来す時は始めは基礎代謝量に変化が表われないが、体蛋白の消耗が活



第4図 低並に高蛋白食時の窒素代謝と基礎代謝の関係
被検者：吉村 (41才, 男)

性原形質蛋白に迄及べば遂に基礎代謝量の低下を招き、又遂に過剰に供給された場合にも過剰蛋白が軽度に蓄積されても基礎代謝に変化はないが、これが蓄積の飽和限界に達する頃になると漸く基礎代謝量の増加を招くものであることが判った。この事実は結局体内に保有せられた蛋白には基礎代謝に関係するものと関係しないものとの2種類を区別す可き事を教えている。そして基礎代謝に関係する蛋白は前記の様に所謂内因性窒素代謝を行う原形質活性蛋白であり、且化学的には比較的安定なものと思われる。従ってこの蛋白は正しくFolinの言うProtoplasm Proteinであり²⁾、Mitchell¹⁶⁾のIndispensable Protein、Schoenheimer¹⁷⁾のFixed Proteinに該当する。そしてその残りの基礎代謝に関係しない蛋白はFolinの学説に従えば所謂貯蔵蛋白に該当するものと思われる。事実この蛋白はさきの実験成績に示された様に浮動性に富み蛋白欠乏の最初に消耗し又蛋白過剰摂取の最初に蓄積すると云うのであるから正しくFolinの述べた貯蔵性蛋白の性質を具えている訳である。然も著者はここに今1つこれが貯蔵蛋白である証拠となる実験成績を挙げたい。それは本研究に際し偶然見出した事であるが、(第1図)に掲げたと同じ被検者(吉村)について、これと同様の低蛋白食実験を予め約1週間程高蛋白食(125g/日)をとって体蛋白の充足を行ってから実施してみた。その結果(第4図)に示す様に、基礎代謝量は2週間の低蛋白食にも拘らず減少しない。そこで蛋白摂取量を更に1日15gに減じて始めて若干の基礎代謝量の低下を見たのである。この事は予め蛋白を充足する事によって蛋白欠乏による基礎代謝の低下を防ぎ得ると云う事であって、この最初に充足せる蛋白はさきの貯蔵蛋白であるからこの事は貯蔵蛋白を豊富とする事により原形質の活性蛋白の消耗を防ぐと言う事であって、正しくFolinが唱えた貯蔵蛋白の特性に該当している。

文献をひもどくとFolinが貯蔵蛋白学説を唱えて以来今日迄色々の研究者がこの蛋白の存在を実証し様として努力し、Addis¹⁸⁾はこれが肝

臓に多く蓄積している事を確め、Whipple等¹⁹⁾は血清蛋白そのものが貯蔵性蛋白であって肝臓蛋白と互に交流して相平衡している事を明かにした。又その化学的性質についてWilson²⁰⁾は蛋白蓄積の初めに蓄積する蛋白のSとNの比は高く漸次に蓄積が進むにつれてこれが減少する事、又蛋白奪失の初期にはやはりS'の喪失が大きくなる事よりこの浮動性蛋白はS'と複合体を形成している事を推論した。

又Schultz²¹⁾や山本²²⁾は貯蔵蛋白の豊富である場合には肝臓のCathepsin活性も高い事から、この両者が互に結合して複合体を形成しているのであろうと考えている。そして最近にはPollack等²³⁾は浮動性蛋白にはriboflavinの結合して居る事を証明した。この様に貯蔵蛋白の存在は色々の方法で証明せられ、且その化学的組成の特徴についても研究が進められている。併し乍らその機能的な特徴に到っては従来の研究は不充分であって、単に近時SelyeのStress学説に関連してその機能的な有用性が論ぜられているに過ぎない(Pollack参照)。これに対して著者の研究は全く機能的な面より貯蔵蛋白と固定蛋白の特徴を明かにしたものと言えるであろう。唯ここで一言注意しておく事は著者の言わんとする事は生体に存する蛋白は単に貯蔵蛋白と固定蛋白の2種類しか存在しないと主張しているのではない。勿論この両種の蛋白の間には色々の段階の移行型があるであろう。その事は低蛋白食や高蛋白食による基礎代謝の減少や上昇が一足跳びに起るのではない事からしても明かであろう。従ってこの両種の蛋白の性質の差は理念的には明確に分ち得ても実際問題としては単なる程度の差として表われて来るのである。それは既にSchoenheimer¹⁷⁾やRittenberg²⁴⁾がN¹⁵を用いた実験によって証明した様に、生体内の蛋白は互に相交流して動的平衡を保ったものであるから寧ろ当然の事と言えるであろう。従って貯蔵蛋白と云い固定蛋白と云ってもそれは程度の差に過ぎないと言えよう。

次に本研究で明かにせられた事実は内因性窒素代謝が原形質の酸化現象と密接不可分の関係

にある事である。即ちこの両者共に原形質の活性蛋白の活動によるものであり、これが物質的には内因性窒素代謝の変化となって表れ、機能的な面では酸化現象の変化となって表れるのである。この両者の関係が如何なる機序によって結ばれているのかはここには明かではない。唯ここで云える事はこの場合の関係は単に食蛋白の不足とか過剰による細胞の蛋白代謝の変化に際して認められるに過ぎないと云う事である。従ってこの両者の関係が如何なる場合にも密接不可分であるかどうかは第2報に於て第1報とは反対に先ず酸化を促進する様な条件を与えた時に内因性窒素代謝が如何に変化するかを検討した上でなければ確言出来ない。従ってこの両者の関係の機序についても第2報にゆずる事にする。

V. 総 括

数名の成人男子に摂取熱量を充分に与え、蛋白量のみを標準量から高低種々に変動させた場合の尿窒素排泄量及 creatinine 排泄量、並に基礎代謝量の変化を主として検討し次の成績を得た。

1) 標準食から低蛋白食に移行させた場合、その窒素出納は最初は負となり、漸次日と共に零出納に近付いて行く。この場合食蛋白量の減少の程度が少くて体蛋白の奪失が僅かならば基礎代謝量に変化はないが、食蛋白量が少くて負出納の程度が強く体蛋白の消耗が著しいときは遂に基礎代謝量は低下する。

2) 標準食から高蛋白食に移行させた場合に於いても過剰蛋白摂取量が体内貯蔵蛋白として充分蓄積した後に始めて基礎代謝量の増加する事を認めた。

3) 以上の様な基礎代謝の変化に伴って creatinine 排泄量も又これと平行して変化し、この両者の比は食質に無関係に一定である。この事より一般に内因性窒素代謝は原形質の酸素消費に關係して居り、この両者は活性原形質の生命保持に必要な基本的な代謝の二面現象に過ぎないものと考えられる。

4) 以上から、人体内に保有せられる体蛋白のうちには、その保有量の増減によって直ちに基礎代謝量に変動を來たすものとそうでないものとの少くも2種類を區別するのが妥当と考えられる。そして食蛋白が増減した場合に先ず最初に蓄積乃至は消耗する体蛋白はこの中の基礎代謝に關係しないものであって、Folin の言う貯蔵蛋白に該当し、従って基礎代謝に直接關係するものは所謂固定蛋白に相當するのである。又所謂内因性窒素代謝とは主としてこの固定蛋白の代謝に相當するものである。

終りに臨み 恩師吉村先生の 絶えざる御指導と御鞭撻とを衷心より感謝する。

文 献

- 1) DuPois, E. F. (1936) Basal Metabolism in Health & Disease. Ed. 3, Lea & Febiger, Philadelphia.
- 2) Folin, O. (1905) Am. J. Physiol. 13, 117
- 3) Smuts, D. B. (1935) J. Nutrition, 9, 403
- 4) Talbot, N. B. et al. (1938) Am. J. Dis. Child. 56, 965
- 5) Krogh, A. & J. Lindhard (1920) Biochem. J. 14, 290
- 6) Deuel, H. J. et al. (1937) J. Biol. Chem. 117, 119
- 7) Peters, J. P. & D. D. Van Slyke (1946) Quant. Clin. Chem. 1, Ed. 2, Williams & Wilkins, Baltimore.
- 8) 山本正道 (1951) 日本生理誌, 13, 408, 462
- 9) 吉村寿人 他 (1952) 日新医学, 39, 641
- 10) Hegsted, D. M. et al. (1946) J. Lab. & Clin. Med. 31, 261
- 11) Springson, D. & D. Rittenberg (1949) J. Biol. Chem. 180, 707
- 12) 白井伊三郎 (昭和14年) 体育研究 7, 129
- 13) 久保忠夫 (昭和2年) 北海道医学誌 4, 559
- 14) 福田正弘 (1953) 日本生理誌 15, 68
- 15) 田中光雄 (1953) 栄養と食糧 6, 76
- 16) Mitchell, H. H. et al. (1940) J. Nutrition, 19, 271
- 17) Schoenheimer, R. & D. Rittenberg (1940) Physiol. Rev. 20, 218
- 18) Addis, T. et al. (1936) J. Biol. Chem. 115, 111, 117
- 19) Madden, S. C. & G. H. Whipple (1940) Physiol. Rev. 20, 194
- 20) Wilson, H. E. C. (1931) J. Physiol. 72, 327
- 21) Schultz, J. (1951) J. Biol. Chem. 178, 451
- 22) 山本克起 (未発表) 栄養と食糧に掲載の予定
- 23) Pollack, H. & S. L. Halpern (1951) Advances in Protein Chemistry, 6, 383
- 24) Shemin, D. & D. Rittenberg (1946) J. Biol. Chem. 153, 401

Summary

The relation between the basal metabolism and the protein metabolism was examined by determining daily the basal metabolism, the urinary output of nitrogen and the creatinine excretion on several human male adults, whose daily food quality was changed in its protein content from the standard (75 g/day) to the high or low level, but not change in its caloric value. Results obtained are as follows :

1) When the level of the dietary protein was lowered (to 40g or 25g of protein per day), the nitrogen excretion diminished gradually and tended to equilibrate with the lowered level of protein intake after some body protein was lost owing to the negative nitrogen balance in the early stage. In the later stage of severe protein deficiency such as in the case of 25g protein diet, when the loss of body protein was severe, the basal metabolism was decreased concomitantly. On the other hand, it did not change in the case of 40g protein diet or in early stage 25g protein diet, when the protein loss was not yet severe.

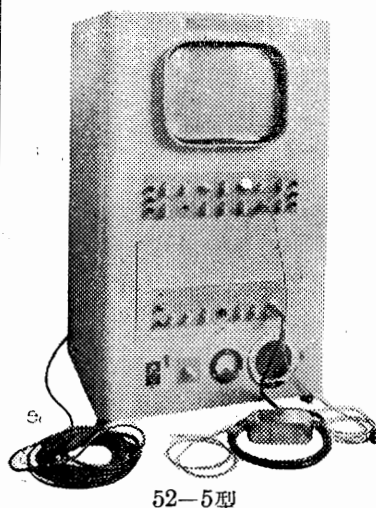
2) When the protein intake was increased (to 125 g/day) from the standard level, the protein was retained in the body. The increase of basal metabolism was, however, detected first in the later stage of high protein diet when a sufficient protein retention occurred.

3) The excretion of creatinine was found to accompany closely with the change of basal metabolism, and thus the ratio of creatinine excretion to the basal metabolism was maintained constant, regardless of changes of protein intake.

4) From these results, the author concluded as follows : There should exist two sorts of protein in the body, of which one is the reserve protein and the other the fixed protein. The quantity and activity of the fixed protein refer to the level of the basal metabolism on one hand, and to the level of endogenous nitrogen metabolism described by Folin on the other hand. This is the reason why the excretion of creatinine changes, accompanying with the basal metabolism. The reserve protein is not intimately related with the oxidation level of protoplasm. Thus it can be lost or retained without change of basal metabolism.

(Institute of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine)

筋電計



52-5型

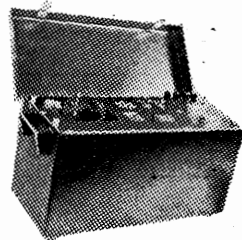
*カタログ贈呈
郵券¥30



- 携帯用 52-1型 ブラウン管径 75mm
 52-2型 ブラウン管径120mm 単掃引装置付
 52-3型 ブラウン管径120mm 単, 複掃引装置付
 ●据置型 52-5型 ブラウン管径 17吋 単, 複掃引装置付

記録装置

パイプレーター (二個装置)	最大入力 周波数 振幅	200MA 0~1000c/s 1000c/s20MAの時 10mm
フロマイド フィルム	35mm×25M 回轉速度 刻 時	2 10 20cm/s 1/50 sec



記録装置

筋電計 (マイオグラフ) 発売元
電気測定器 真空管 電気部品

東京電気精機株式会社

東京都千代田区神田仲町2の11番地
電話下谷 (83) 6525



の
局方製品

パンクレアチン
 含糖ペプシン
 アミンナカン
 タンナルビン
 次硝酸ビスマス
 次炭酸ビスマス
 次没食子酸ビスマス
 スルファミン
 アセトスルファミン
 サルチル酸ナトリウム
 ヘキサミン
 葉用石炭末
 カリ石炭

東京都中央区日本橋室町4の5

製造發賣元 ミクニ化學産業株式會社

基礎麻酔及び誘導麻酔に

成分 5.5イソアミル エチル バルビツール酸ナトリウム 水に容易に溶解する
用途 前麻酔、基礎麻酔、誘導麻酔には麻酔量の節約、患者の術前の不安を除去、痛覚域の引上げ、反射刺激性ノ減少、麻酔の平滑な導入、術中の興奮発生の防止、麻酔剤の副作用の緩和術後の疼痛の除去に優れた効果を発現します
用法用量 患者の容態、症候、年齢、神経系の状態等の個人的反応によつて決定されます
 通常薬効の鋭敏性を必要とする場合は静脈内に、持続効果を望む場合、或いは不安、興奮、拒絶症状が強く 静脈注射が困難なときは筋肉内注射が適当です
 ☆基礎、誘導麻酔には0.3~0.8g静注 ☆手術前後の不安・苦痛除去には0.5g

0.25g（注射用蒸溜水
 2.5cc添付）各5管入
 0.5g（注射用蒸溜水
 5.0cc添付）各5管入

イソミナルソーダ

京都市中京區壬生下溝町38 日本新薬株式会社 札幌・東京・大阪・富山

GIS-9

主要製品



**バイシリン
 ペニシリン
 オレオスライシ**

（米国メルク社製コーチゾン）

（米国メルク社製ハイドロコーチゾン）

（結核治療抗生物質）

**マイシリン
 バンチオニン
 強バンチオニン**

（局所麻酔剤）

（強力駆虫薬）

（吐素駆梅剤）

（持続性ニ基ベニシリン）

（各種ベニシリン製剤）

（抗糸状菌性抗生物質）

**コートン
 ハイドロコートン
 ジドロストロマイシ**

（ペニシリン、ストレプトマイシン合剤）

（メチオニン製剤、肝臓障害）

（同上 10%注射液）

**バンカイン
 パンパラジ
 ネオエーラミツール**

東京都中央区日本橋本町2-7 萬有製薬株式会社 大阪・岡崎・札幌・福岡