

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

第18巻 第9号

Vol. 18 No. 9

昭和31年9月1日発行

September, 1956

原 著

- 島田久八郎：クエン酸ソーダ及びその他の刺激を筋に与えた場合の神経衝撃について
(骨骼筋の化学受容器について) 627
- 山本喜昭：皮膚反射に関する研究(第2報) カエルの皮膚呼吸反射における前脳の
役割について 641
- 宮下 勉：瀉血並びに輸血時のストレス症候としての過血糖及び血液凝固能昂進に
就いて 646
- 山根彦二・田代 裕：細胞内酸可溶性磷分劃の contamination について 656
- 田代 裕・山根彦二：細胞内リポイドの抽出及びリポイド磷の turnover と contamination に
関する研究 659
- 田代 裕・山根彦二：細胞内核酸及び磷蛋白磷の turnover 及び inorg. P³² の contamination に
ついて 663
- 山根彦二・田代 裕：肝細胞内の核酸分布と核酸磷の Rate of Renewal 666
- 永持和 一：犬副腎不全症の発現機序について 669

地方小学会報

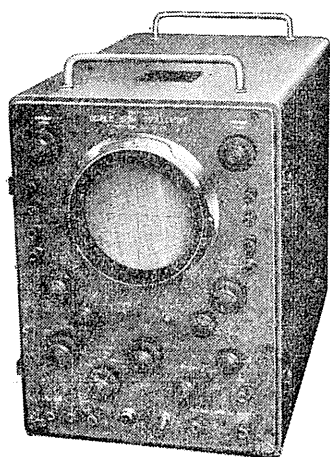
- 第11回近畿生理学談話会(2) 678

- 昭和30年度生理学論文表題集(3) 687

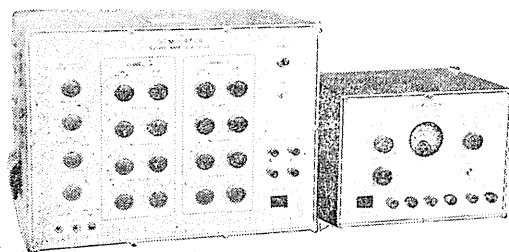
日 本 生 理 學 會

Physiological Society of Japan

直 流 増 巾
二現象オシロスコープ



ニ チ ャ ン ネ ル
刺 戟 装 置



製 作 品 目

二現象筋電計・記録装置・直流増巾器
電気衝撃（麻酔）装置・超低周波時間軸装置
二現象観測装置

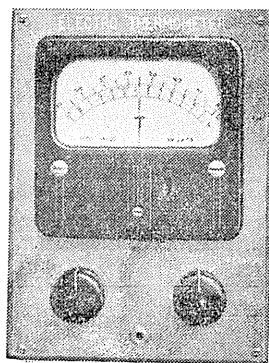


東 京 電 氣 精 機 株 式 會 社

東京都千代田区神田仲町 2-11 電話(25) 9186, 9188
9187

Venus Electro Thermometer

ヴ ィ ー ナ ス 電 気 体 温 計



ET-4 型

- | | | |
|-----|---|-------|
| 指示計 | { | ポケット型 |
| | | 卓上型 |
| | | トランク型 |
| 感熱部 | { | 壁掛型 |
| | | 一般用 |
| | | 皮膚用 |
| | | 体腔用 |
| | | 注射状 |

多点測定，連続記録，温度計其他電気生理学研究用電気計器の特別設計，製作
修理の御引受出来ます。

ヴ ィ ー ナ ス 電 機 製 作 所

東京都新宿区戸塚町二ノ二
電話 三四局(84) C 416

クエン酸ソーダ及びその他の刺激を筋に与えた 場合の神経衝撃について 612.816.7

(骨 格 筋 の 化 学 受 容 器 に つ い て)

Effects of Sod. citrate and other Stimulation upon the Nerve and Muscle
(On the Chemoreceptor in Skeletal Muscle)

島 田 久 八 郎 (SHIMADA-Kyuhatiro)*

I. 序 言

運動時の呼吸促進の原因として、Euler and Liljestr and¹⁾は筋活動時に生ずる物質が血行を介して直接呼吸中枢に作用するからといい、Asmussen and Nielsen²⁾, Kammer and Gauer³⁾は同様の物質が頸動脈球に働き反射的に呼吸促進が起るという。高木・長谷川⁴⁾⁵⁾⁶⁾はCO₂やその他の物質が血行を介して呼吸中枢や頸動脈球に作用するのではなく、筋活動時に生じた物質が直接筋中の受容器に作用して反射的に呼吸促進が起るのであると主張し、筋中に化学受容器を想定した。太田⁷⁾は運動時の心搏数の増加、血圧上昇を同様の機序で説明している。Alam and Smirk⁸⁾も運動時の心搏数の増加、血圧上昇は、活動時の筋から反射的に起るものであり、筋の代謝産物がその反射に関係していると報告している。Harrison⁹⁾は活動時の筋の機械的変化により反射的に呼吸促進が生ずるといふ。

筋からの化学反射 (高木・長谷川) では筋の代謝特に糖代謝に関係のある物質が刺激物質として考えられている。クエン酸ソーダ、乳酸、焦性葡萄糖酸ソーダ、アデニール酸ソーダ等を犬や猫の股動脈に注射すると呼吸促進が起り、特に前2者で著明である。人間でもクエン酸ソーダの股動脈注射で動物で得られたと同様の呼吸促進が生ずる¹⁰⁾。高木・太田¹¹⁾はさらにこの化学反射の受容器と求心性衝撃とを蛙の筋神経標本で調べた。蛙の筋にクエン酸ソーダを作用させ神経幹より偽作流を記録し、クエン酸衝撃と

いっている。長谷川・島田¹²⁾はクエン酸衝撃と神経線維との関係を報告している。しかしクエン酸衝撃が総て前に想定した化学受容器から出ているものと断定するには多くの問題が残る。Matthews¹³⁾の研究による筋の伸展受容器との関係が先ず最初の問題となる。彼によると、クエン酸ソーダはCaイオンを固定するように作用し、伸展受容器をなれおそにし、伸展性衝撃の後発を延長させる。クエン酸ソーダを刺激として用いる場合は、これが受容器だけでなく、筋や神経線維に対しても直接刺激になることを考えなくてはならない。Adrian and Gelfan¹⁴⁾は筋でBrink等¹⁵⁾や大野¹⁶⁾は神経線維でクエン酸ソーダはCaイオンを固定し自発性の反復興奮を起こさせることを報告している。

本論文はこれらのことを考慮に入れ、高木・長谷川⁶⁾、太田⁷⁾等の研究に引き続きクエン酸衝撃を中心として、筋の化学刺激による神経衝撃を調べ、骨格筋中の化学受容器について考察せんとしたものである。

II. 実験方法

多くは蛙の坐骨神経腓腹筋標本を使用した。筋をRinger液で満した数ccの小箱に横たえ、Ringer液を種々の濃度のクエン酸ソーダRinger液やその他の溶液にかえ、或いはまた筋を伸展して刺激し、坐骨神経より偽作流を記録した。誘導は亜鉛・硫酸亜鉛不飽和電極をもって行い、三段抵抗容量結合増幅器を使用し、ブラウン管で偽作流を観察しながら適宜電磁オシログラフにH型振動子を用いて記録した。プロマイドペーパーの速度を必要に応じて約

* 新潟大学医学部生理学教室 (高木健太郎教授)

50cm/sec に回転させ、神経衝撃の数を数え、その経過を時間を追って調べた。筋には通常伸展を加えないで化学刺激を与えた。伸展刺激を加える必要がある場合には 3.5g 及び 8.5g の負荷を与えた。

神経線維を数本或いは単一にするときは、双眼顕微鏡下で、田崎¹⁷⁾の方法で標本を作り、髄鞘乾燥法により偽作流を記録した。液の温度は 18~22°C の間で行われた。使用した薬品は試薬用または化学用として市販されているものである。なおその他の方法については実験結果の所でのべる。

Ⅲ. 実験結果

A. クエン酸ソーダを作用させた場合の神経衝撃

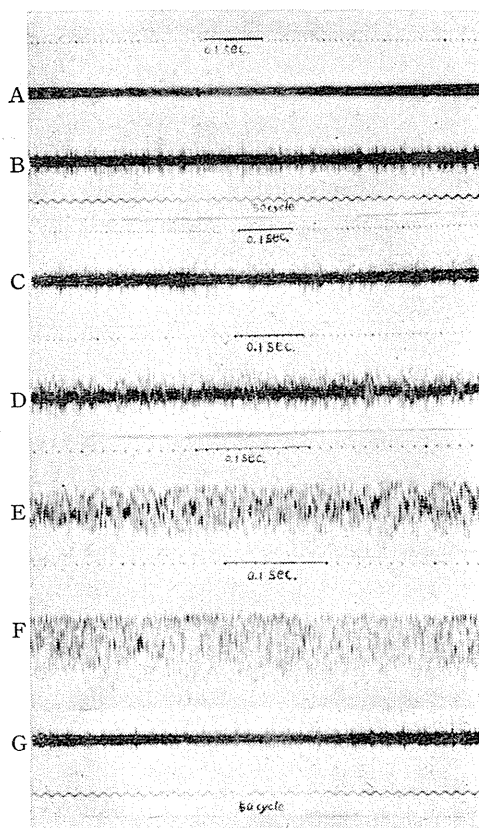
1. 猫の股動脈にクエン酸ソーダを注射した場合

猫を 1g/kg のウレタンで麻酔し、坐骨神経を鼠径部で切断し、股動脈に 5% クエン酸ソーダ 2cc を注射する。下肢筋は注射後 2~3 秒で急に収縮し、同時に坐骨神経から頻数の偽作流が認められる。これは数分続いて消失するが、股静脈をクレンメで止めておくと 10 分以上偽作流は続く。下肢筋が収縮すると同時に猫は啼き叫び、四肢を動かし、著明な呼吸促進が起る。この呼吸促進は、下肢の皮膚を除去しても起り、筋からの反射的のものであることが明らかになっており、この求心性衝撃は、筋中の受容器にクエン酸ソーダが作用して生じたものであると考えられる。

2. 筋に作用させた場合

蛙の腓腹筋を無負荷で Ringer 液に浸した場合、通常は坐骨神経に偽作流を認めないが、筋を浸した Ringer 液をかえずに置くと、時々 1~10/sec の衝撃を認めることもある。

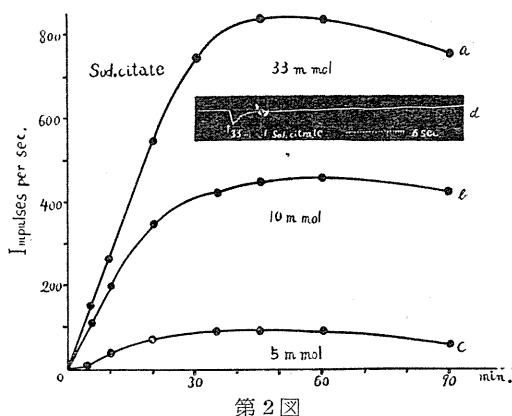
Ringer 液をクエン酸ソーダにかえると、神経衝撃が現われてくる。第 1 図は 33mM クエン酸ソーダ・Ringer 液を作用させたものである。この神経衝撃の 1 秒間の数の時間経過をグラフで示すと第 2 図の a のようになる。坐骨神経幹より記録しているので、30~40 分で神経衝撃の



第 1 図 蛙、坐骨神経腓腹筋標本

筋に 33mM クエン酸ソーダ Ringer 液を作用させ坐骨神経より記録した偽作流。A ; Ringer 液、対照。B ; 8.5g の負荷で筋を伸展。C ; クエン酸ソーダ作用後 10 分。D ; 20 分後。E ; 30 分後。F ; 1 時間後。G ; 2 時間後。以下の図に示すものも標本は第 1 図と同様。

数が多くなり重り合うと数は正確にはわからない。又振動子は H 型で 800/sec 以上の振動は忠実に現われない。従って第 2 図の a では、その最高部は真の数より少くなっている。グラフに画かれた化学刺激による衝撃頻度曲線は同一の刺激を 3~4 個の標本に与え、得られたものを平均してある。33mM では作用後 1~2 分で神経衝撃が出はじめ、急激にその数を増し、40~50 分で最高頻度に達し、その後極めて徐々に減少しながら 2~3 時間続く。その後は伸展刺激にも、電気刺激にも応ぜず、筋は死んでしまう。しかし、5~10mM のクエン酸ソーダの場合は時間がたって神経衝撃のなくなった後、新



第2図

筋にクエン酸ソーダを作用させた場合の神経衝撃数の時間的経過

aは33mM. bは10mM. cは5mM クエン酸ソーダ Ringer 液を筋に作用した場合. dはaと同じ溶液で得られた筋の収縮曲線.

しい同一濃度のクエン酸ソーダにかえると再び神経衝撃が発生する. 最初の古くなったクエン酸ソーダ Ringer 液を他の新しい標本に作用させるとやはり神経衝撃が発生する. これは, 筋中にクエン酸ソーダ刺激を中和するような物質ができて馴応が起ったものと考えられる. しかし, 筋の外へはその物質の出方が少ないので, この液を他の筋に作用させると新しい液と同様に刺激となり得るのであろう. とにかく林等¹⁸⁾のいう塩縮, 塩奮及びその抑制物質と同じようなことが, クエン酸ソーダ刺激の場合も起っているものと考えられる.

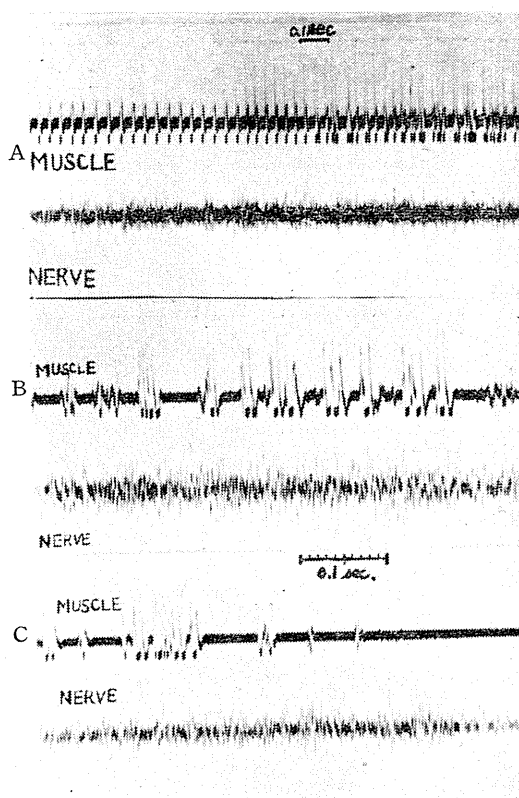
クエン酸ソーダの濃度を高めると頻度曲線は第2図のものより急峻になる. 10%では1~2秒で神経衝撃がで, 5分位で最高頻度に達した後徐々に減少して15~20分で消失する.

筋の外からクエン酸ソーダを与えた場合は, 神経衝撃の出方は, 筋中にクエン酸ソーダの滲透する速度と関係するのであろう. 蛙の腓腹筋で0.1%メチレン青の滲透する速度を調べると, 10分で筋の横断面の半径の半分まで20分で筋中全体に色素が滲透する. 低濃度のクエン酸ソーダの滲透もメチレン青と同様とすると, 神経衝撃の最高になるまでの時間と, 物質が滲透するまでの時間との間に差がある. するとクエン酸ソーダは組織に短時間触れただけでは刺激

にならず, ある程度の作用時間が必要なものと考えられる.

第2図dは筋収縮の機械曲線であるが, 33mM クエン酸ソーダの作用後1~2秒で収縮が起り, 律動的な収縮を続けながら1~2分でもとの筋長になる. 図では筋長がもとにもどった後全然変化が認められないが, 肉眼で直接筋を観察していると, 局所的収縮が時々起っている. 神経衝撃の最高に達するのは筋収縮の最も盛んな時よりも遅れており, その後筋収縮が殆んど認められなくなっても衝撃はなお出ている.

筋と神経束から同時に偽作流を記録すると第3図のようになる. 腓腹筋を杉¹⁹⁾の方法で隔離し, その両方のブールから筋の偽作流を記録する. 刺激は33mM クエン酸ソーダ・Ringer 液を隔離した両ブールに作用させる. Adrian²⁰⁾は食塩水やクエン酸ソーダ, 蓚酸ソーダ溶液等で



第3図 筋と神経束よりの偽作流の同時記録

A. B. Cともに33mM クエン酸ソーダ Ringer 液を筋に作用させて10~20分の間に得られたもの.

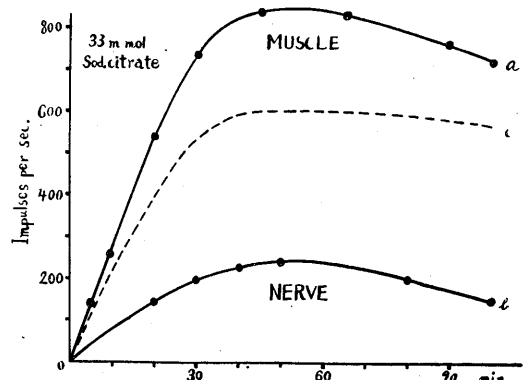
蛙の筋の自発性反復興奮を報告しているが、ここでも同様の結果が得られた。第3図Aは筋、神経束から得られた比較的規則的な偽作流である。しかしBでは筋の偽作流が全然認められないのに神経束からは衝撃が出ている。又Cのように不規則な筋の偽作流が出ている時でも神経束からは連続的に衝撃が発生していることもある。筋からの偽作流は総じて不規則であるが神経束からは、常に連続的な衝撃が第1図、第2図のように出ており、この2つの偽作流は時間的に一致していない。0.7%の食塩水を作作用させても、筋および神経束から偽作流が得られるが、その場合もやはり、筋と神経束との偽作流は同期していない。これらは神経衝撃が筋収縮のメカノグラムとも、肉眼的観察とも対応していなかったこととともに神経束からの衝撃が、機械的な筋収縮に直接由来するものでないことを示す。すなわち、クエン酸ソーダは筋に作用して収縮を起すが、神経線維から得られる衝撃はその筋収縮の結果、二次的に筋の伸展受容器が刺激されて生じたものではない。しかし筋収縮を全然起さないで神経衝撃の発生することはなかったから筋収縮との関係は全くないとはいえない。結局、クエン酸ソーダが直接に、或いはクエン酸ソーダによる筋収縮によって生じた物質が、筋中の受容器又は神経末端部に作用して神経衝撃が発生したものと考えられる。

神経衝撃を発生させるクエン酸ソーダの閾値は、低濃度のものを Ringer 液に溶解して筋に与えた後、20~30分までに神経衝撃発生の有無で決めた。Ringer 液のみでも少数の神経衝撃の生ずることもあるので、いろいろのクエン酸ソーダの濃度で神経衝撃の出方を標本をかえて追って行き、Ringer 液と差を認めなくなった所を閾値とした。その濃度は1~2mMである。

3. 神経線維にクエン酸ソーダを作用させた場合

今までの実験で筋神経標本の筋にクエン酸ソーダを作用させて得られた神経衝撃（これを筋刺激クエン酸衝撃となす）が、筋中の受容器に作用して生じたものか、神経線維に直接作

用して生じたものかは以上の成績からは明らかでない。既に Brink 等¹⁵⁾や大野¹⁶⁾はクエン酸ソーダを神経線維に作用させて神経衝撃の発生を報告している。そこでクエン酸衝撃の由来を明らかにするため神経線維のみにクエン酸ソーダを作用させてみた。蛙の脛骨神経の腓腹筋に入る所及びその枝の R. superficialis をアキレス腱の所で切った標本、すなわち、坐骨神経腓腹筋標本から、腓腹筋を除いた神経標本を作る。この神経束の末梢部 2cm にクエン酸ソーダを作用させると、神経衝撃が生ずる。これを筋刺激クエン酸衝撃に対して神経刺激クエン酸衝撃とよぶことにする。第4図は33mM クエン酸ソーダ Ringer 液による腓腹筋の筋刺激クエン酸衝撃 (a) と神経刺激のクエン酸衝撃 (b) とを比較したものである。神経刺激クエン酸衝撃の時間的経過は筋刺激の場合と同様であり、クエン酸ソーダが刺激となるのに作用時間が必要なことも同じと考えられる。神経衝撃の数は最高約200/secで、筋刺激の場合の約1/4である。破線 (c) はその差を示したもので筋中の神経組織から生じた神経衝撃の数と考えられる。然し、その神経組織が筋中の神経線維か、その分枝した無髄鞘部か、或いは受容器かは明らかではない。恐らくそのいずれにも作用して生じたものであろうが、いまのところは神経組織を含んだ筋にクエン酸ソーダを作用させて生じたものとしてだけ考えておく。



第4図 筋刺激クエン酸衝撃と神経刺激クエン酸衝撃 a; 第3図のaと同じ。b; 神経線維のみでaと同じ刺激を与えた場合。c; aとbの差。

腓腹筋坐骨神経標本の坐骨神経の一部を隔離し、そこに前と同様の33mMクエン酸ソーダを作用させると神経標本のみの場合と殆んど同様な経過で衝撃が生ずる。クエン酸ソーダの作用後数分して筋に収縮が見られる。神経線維が筋に入る所で切断すると筋収縮はやむが、衝撃は変わらずに連続的に出ている。この誘導方法では、神経刺激クエン酸衝撃だけでなく、運動神経が刺激されて、筋が収縮し、それによって筋の伸展受容器から求心性にくる神経衝撃も同時に混っている。しかし全衝撃数は神経線維のみの場合より僅かに多い程度である。だから第4図の破線は二次的の伸展性衝撃を含んでいるとしてもそれは僅かで、殆んど全部が筋刺激クエン酸衝撃と考えてよいだろう。そこで筋刺激クエン酸衝撃から筋中の神経組織の性質を推察することは可能と考えられる。

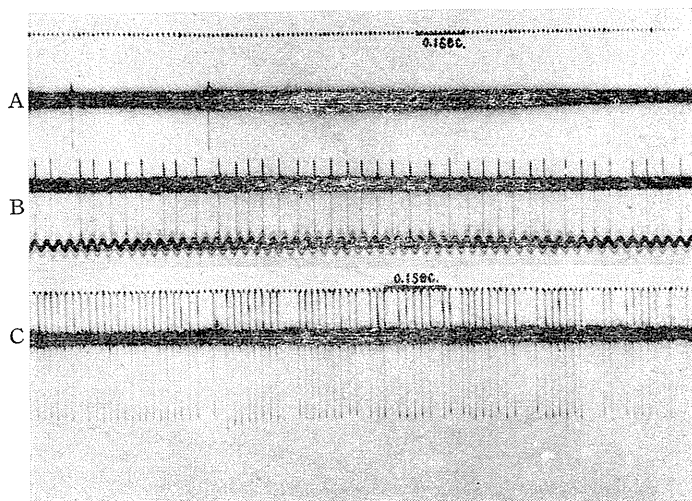
神経線維へのクエン酸ソーダの閾値は筋神経標本で行ったと同様の方法で調べて、やはり1~2mMであった。

4. 前根及び後根よりの誘導

臺で筋刺激クエン酸衝撃を前根からも後根からも記録できる。

一般に溶液を動脈に注射して筋に作用させた場合、筋の外から作用させたと同様に、溶液は筋中の神経組織にもゆきわたると考えなければならない。するとクエン酸ソーダの股動脈注射時には、運動神経線維にも antidromic に神経衝撃が伝導されと考えられる。筋刺激クエン酸衝撃が後根を通して反射的に呼吸促進をおこす事は明らかな事であるが、前根を antidromic に行く神経衝撃がどのような偽らきをしているのかは明らかでない。

5. クエン酸ソーダ刺激による神経衝撃の大きさ

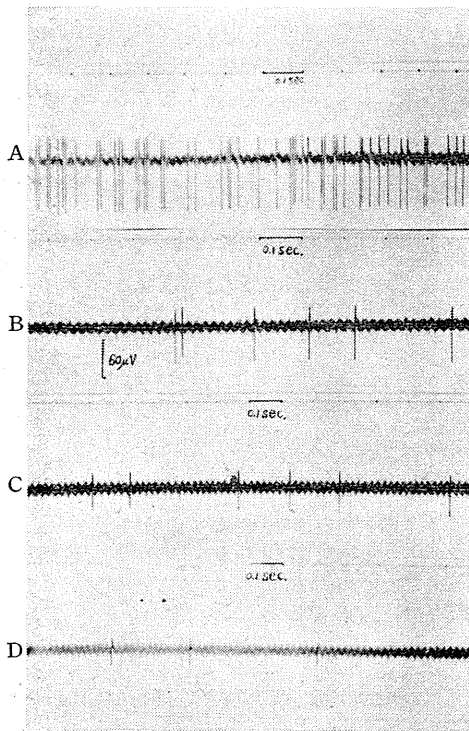


第5図 クエン酸衝撃の大きさの増大と増加

10 μ の神経線維を2本残した神経筋標本。A；筋を伸展した場合。B；3%クエン酸ソーダ作用後2分。C；5分後クエン酸ソーダは偽作流誘導部の神経にも作用させてある。

クエン酸ソーダによる衝撃を神経線維を数本にして観察した。第5図は坐骨神経腓腹筋標本で運動神経線維でない2本の有髓線維を分離した場合である。Aは伸展により生じた衝撃で伸展をそのまま続けてクエン酸ソーダを筋及び神経束に作用させると、Aと同じ大きさの神経衝撃が現われてくる。時間が経過すると衝撃の数も増加し大きさも、B、Cの様に大きくなる。やがてこの衝撃も第1図のように大きさも小さくなり、数も少なくなって消失してしまう。

第6図は10 μ の有髓神経3本を分離した神経線維標本で3%のクエン酸ソーダを作用させた場合である。Aは15分ですでに最高頻度に達した後であるが、その後衝撃数の減少とともに衝撃の大きさが次第に小さくなっている。同様のことが、大野¹⁶⁾によっても報告されている。大野は単一神経線維で、電気刺激後大きな伝導性の衝撃の後に、小さな衝撃を認めているが、第6図のクエン酸衝撃にしても又第5図の伸展刺激にクエン酸刺激を重ねた場合にも小さな衝撃を伴うことはなかった。神経束からの誘導では、第1図Cのように大きささまざまな衝撃が得られるが、その中に同一線維から生じた小さな衝撃が含まれているのかもしれない。



第6図 クエン酸衝撃の大きさと数の減少
10 μ の神経線維3本の標本。A; 3% クエン酸ソーダ作用後15分。B; 30分。C; 1時間。D; 1.5時間。

6. 単一神経筋標本の場合

腓腹筋坐骨神経標本を田崎¹⁷⁾の方法で単一神経線維に分離する。神経線維の電気刺激により収縮を起さず又筋に200gの負荷で伸展しても応じない神経線維を分離して、筋にクエン酸ソーダを作用させると第7図のような衝撃がみられる。このことはクエン酸衝撃が伸展受容器と無関係な神経線維にみられる事を示している。

7. 小括

a. クエン酸ソーダを猫の股動脈に注射したり、蛙の筋神経標本の筋に作用させると筋は反復興奮をおこし坐骨神経より偽作流が得られる(筋刺激クエン酸衝撃)。

b. クエン酸ソーダは神経線維にも作用して反復興奮を

起す(神経刺激クエン酸衝撃)。

c. 筋刺激クエン酸衝撃数の3/4は筋中の神経組織から生じたものである。

d. 筋刺激クエン酸衝撃は、運動神経線維からも知覚神経線維からも得られる。

e. クエン酸衝撃は、筋の収縮とも筋の偽作流とも同期しない。

f. クエン酸衝撃はその頻度の増加と共に大きくなり、頻度の減少と共に小さくなる。

g. 閾値は筋に作用させたときも、神経線維に作用させた時も同様で1~2mMである。

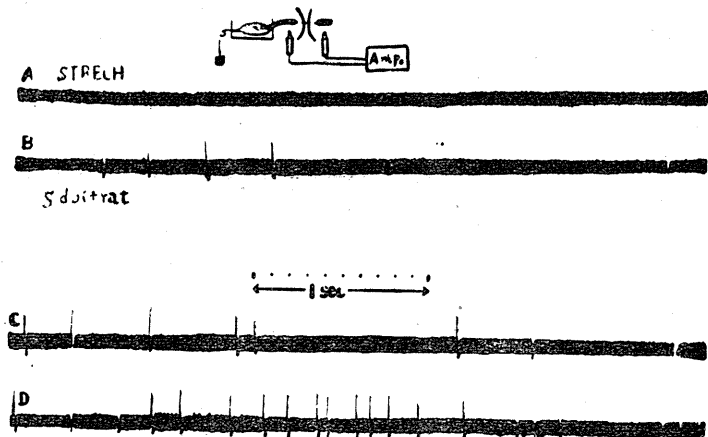
h. 筋の伸展性衝撃はクエン酸ソーダにより増加する。

i. 運動神経線維でなく、又伸展受容器にも連らならない神経線維からも、筋のクエン酸ソーダ刺激に応じて神経衝撃が発生する。

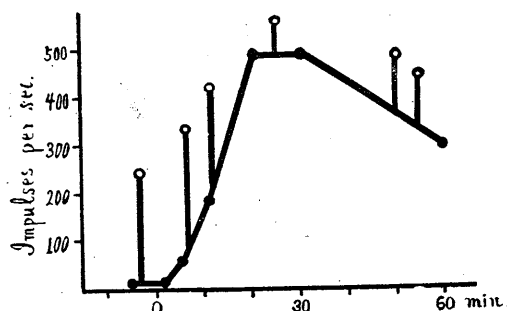
B. クエン酸衝撃と伸展性衝撃との関係

1. クエン酸ソーダ刺激中に伸展刺激を加えた場合

クエン酸ソーダは筋にも受容器にも又神経線維にも作用して反復興奮を起させる。筋刺激クエン酸衝撃も、その由来は種々のものが混っている。クエン酸衝撃が出ている経過中に伸展刺激を加えると第8図のようになる。腓腹筋坐骨神経標本で、最初筋をRinger液の中に入れたまま8.5gの伸展を筋に加えて対照とする伸展性衝



第7図 単一神経線維標本で得られた筋刺激クエン酸衝撃
線維の径は7 μ 。A; Ringer液中で20gの負荷を筋に与える。B; 3% クエン酸ソーダを筋に作用後30秒。C; 1分後。D; 3分後。



第8図 筋刺激クエン酸衝撃と伸展性衝撃
黒丸は 20mM クエン酸ソーダ Ringer 液によるもの。
白丸は 8.5g の負荷によるもの。(最初は Ringer 液中の対照)。

撃は伸展を続けているうちに順応を起し、衝撃数が減少してくるが、伸展後10秒位で衝撃数は一定になるので、この場合はすべて、10秒から15秒の間で伸展性衝撃の数を調べた。この間では約 220~230/sec であった。クエン酸衝撃数の少ない間は、伸展性衝撃数は対照に比べ増加している。20~30分たってクエン酸衝撃が 200~300/sec の場合には伸展を加えると衝撃数はやはり増加するが、増加分はクエン酸衝撃の多い程少くなる。

2mM クエン酸ソーダ Ringer 液を作用させて筋に反復興奮の殆んど生じないときでも、伸展刺激を加えると、Ringer 液の対照に比べ衝撃数は増加する。これは Matthews¹⁵⁾のいうようにクエン酸ソーダにより伸展受容器の興奮性が高まったためであろう。第5図で伸展性衝撃の出ている時にクエン酸ソーダを与えると衝撃数の増加することを示したが、第8図はクエン酸ソーダの作用下で伸展を加えると伸展性衝撃が増すことを示している。

第1図のCのクエン酸衝撃は同図のBの伸展性衝撃に較べて大小種々の衝撃が混っているが、低濃度では大いさの異なる衝撃を記録することは出来なかった。第1図のCでは大野¹⁶⁾のいうように同一線維からの大小の衝撃が出ていたものかもしれない。

伸展性の刺激に応ずる単一神経線維を分離した筋神経標本で筋にクエン酸ソー

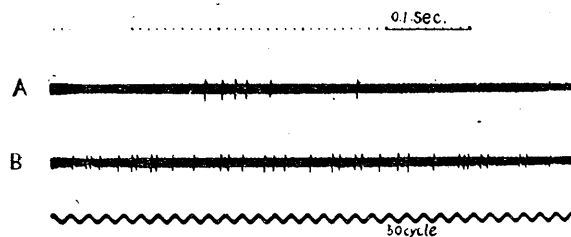
ダを作用させると第9図のAのように衝撃が発生する。Bはクエン酸ソーダ刺激を続けたまま伸展を加えたものである。これで伸展性衝撃を伝える線維からもクエン酸性衝撃の得られることがわかった。

2. クエン酸衝撃及び伸展性衝撃に及ぼす組織毒の影響

序言で想定したような化学受容器があってクエン酸衝撃を出しているものなら、頸動脈体の化学受容器のように、シアン化ナトリウムで興奮したり、また一沃度醋酸等の組織毒で伸展受容器と区別できないだろうかと考えて次の実験を行った。

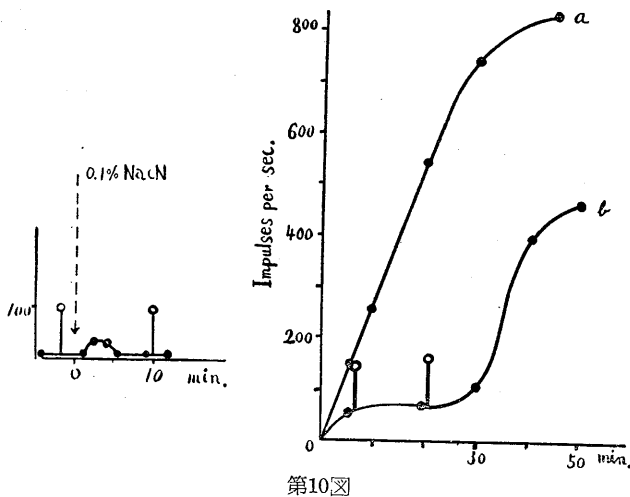
a. シアン化ナトリウムによる影響

Ringer 液中に 3.5g の伸展を加えた状態を対照とし、液を 0.1% シアン化ナトリウム Ringer 液にかえると、それだけでも衝撃を発生するが、極めて僅かで最高約 50/sec である。また一過性で数分続いてすぐ消失してしまう(第10図左)。その経過中に対照と同様の伸展を加えると、衝撃数は対照に比して僅かに減少するだけである。だから伸展性衝撃はシアン化ナトリウムにより障害され方が少ないと考えられる。10分後にシアン化ナトリウムを Ringer 液で洗い 33mM クエン酸ソーダ・Ringer 液に換えると第10図のbのように、クエン酸性衝撃が発生するが、新鮮な標本ではじめからクエン酸ソーダを作用させた場合のaに較べ数分の1に減少している。この時に対照と同様の伸展刺激を加えると、同じ程度に衝撃が発生する。シアン化ナトリウムの濃度をかえてもそれだけで持続的な



第9図

単一神経線維筋標本による筋刺激クエン酸衝撃と伸展性衝撃
A; 3% クエン酸ソーダ刺激。B; Aの直後さらに筋に伸展を加えた場合。



第10図

シアン化ナトリウムの筋刺激クエン酸衝撃 (黒丸) と伸展性衝撃に及ぼす影響

伸展は 3.5g の負荷による。左図は 0.1% NaCN・Ringer 液を与えて伸展した場合。右図 b は左図のような前処置後 Ringer 液で洗って 33mM クエン酸ソーダ Ringer 液を与えた場合。a は無処置で 33mM クエン酸ソーダ Ringer 液によるもの (対照)。

衝撃を得ることは出来ず、初期に一過性の少数の衝撃を認めたにすぎない。

b. 一沃度醋酸による影響

0.1% の一沃度醋酸を筋に作用させるとシアン化ナトリウムと同じく一過性に僅かの神経衝撃がでてすぐなくなり、筋は数分後死んでしまう。そこで炭酸ソーダで B. T. B. 試験紙で pH 7 にして筋に作用させシアン化ナトリウムで行ったと同様のことを行う。中和した一沃度醋酸でもシアン化ナトリウムと同様に一過性の少数の神経衝撃を生ずる。伸展性衝撃は 30 分後には僅かに減少する程度で対照と殆んど変らない。その後 Ringer 液で洗って 33mM クエン酸ソーダ Ringer 液にかえるとクエン酸衝撃は著明に減少する。

一沃度醋酸の濃度をより高めたり、又作用時間を長くすると伸展性衝撃の数も減少する。

一沃度醋酸で前処置をしてクエン酸ソーダを与え、クエン酸衝撃が障害されながらも出ている時に伸展を加えると、衝撃数が増加しないで逆に減少或いは消失する事がある。これは、一沃度醋酸前処置後のクエン酸衝撃はクエン酸ソーダの直接刺激によるものが少く、筋収縮によ

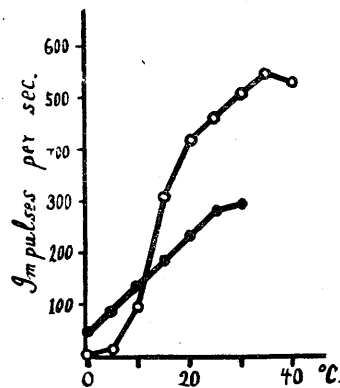
る二次的の機械的変化で生じた衝撃が多いため、筋を伸展させてもこの位置に筋が復すると衝撃数が減少又は消失するものかもしれない。もしそうだとすると、一沃度醋酸処置後は、クエン酸ソーダ直接刺激によるものが殆んど障害されて、機械的変化に應ずるものが多く残ると考えられる。一沃度醋酸を Ringer 液で洗った後クエン酸ソーダを作用させて 30~40 分すると衝撃が 300~400/sec 出るのは一沃度醋酸の作用から段々筋が恢復してクエン酸ソーダの刺激効果が現われてきたものである。

以上のように一沃度醋酸やシアン化ナトリウムでクエン酸衝撃と伸展性衝撃が区別されるのは、この 2 つの刺激の作用機序及び、衝撃発生

の由来の異なることを示すものである。

3. クエン酸性及び伸展性衝撃数の温度による変化

伸展性衝撃もクエン酸衝撃も低温で少くなり温度が高まると増加する。そこでこれらの温度による変化を次の様にして調べた。1% クエン酸ソーダを作用させて後 15 分の衝撃数と、15g の負荷による伸展性衝撃数を種々の温度で調べた。第 11 図は各々 3~5 個の蛙の腓腹筋坐骨神経標本で得られた値を平均したものである。図



第11図 温度による筋刺激クエン酸衝撃 (白丸) と伸展性衝撃 (黒丸) の変化。

でみるように、伸展性衝撃とクエン酸衝撃との間に著明な差がみられる。

4. 小括

a. クエン酸ソーダは伸展受容器に作用して反復興奮をおこさせ、又伸展刺激による衝撃数を増加させる。クエン酸衝撃中には伸展受容器から生じたものが混じっている。

b. 低濃度の場合のクエン酸衝撃と伸展性衝撃とは同一の大きさである。

c. クエン酸衝撃はシアン化ナトリウムおよび一沃度醋酸で伸展性衝撃よりも著明に減少する。

d. 温度による影響はクエン酸衝撃の方が伸展性衝撃より大きい。

C. 種々の化学刺激及び電気刺激による神経衝撃

1. Ca イオン固定物質を与えた場合

クエン酸ソーダの他に Ca イオンを固定するものとして蓚酸ソーダ、硫酸ソーダを筋に作用させて神経衝撃数を比較した。濃度はすべて 33mM にし、0.5% 食塩水を加えて筋に作用させる。その時の神経衝撃数はクエン酸ソーダが最も多く、次に蓚酸ソーダ、硫酸ソーダの順になる(第12図)。硫酸ソーダでは殆んど衝撃は認められない。蓚酸ソーダでは衝撃数の時間的経過、筋収縮との関係、衝撃の大きさの変化、閾値等全くクエン酸ソーダと同じである。ただ最高頻度が僅かに少いだけである。この3者の Ca 塩の溶解度は蓚酸 Ca で最も少く、次にクエン酸 Ca、硫酸 Ca の順である。クエン酸ソーダや蓚酸ソーダがこのような著明な衝撃を産

生するのは、Adrian¹⁴⁾大野¹⁶⁾等の実験の示すように Ca イオンの固定によるものであろう。

しかし Ca イオン固定の能力と衝撃数の発生順が必ずしも一致せず、硫酸ソーダが同一 M 濃度で殆んど衝撃を生じないのは Ca イオン固定が必ずしも衝撃発生の唯一の決定因子でないことを示している。

2. 他の化学刺激を与えよ場合

グルタミン酸ソーダは10%の高濃度では同濃度のクエン酸ソーダと殆んど差のない程度に衝撃が出るが、低濃度(33mM)では殆んど刺激にならない。

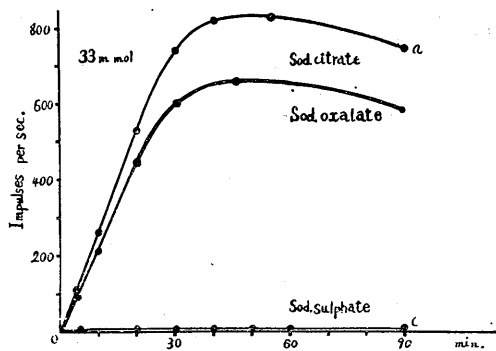
糖代謝の Krebs の環中の物質、フマル酸、リンゴ酸、コハク酸等の Na 塩を作用させても衝撃は発生するが、33mM の Ringer 溶液では3者とも最高頻度は 300/sec を越えず持続時間もみじかく、クエン酸ソーダや、蓚酸ソーダのような著明な衝撃は認められなかった。33mM 濃度のクエン酸、蓚酸、フマル酸、リンゴ酸等を酸のままでは与えると、衝撃発生は認められるが、10分位でなくなってしまい、最高頻度も 200~300/sec を越えず、クエン酸ソーダ或いはリンゴ酸ソーダのような高頻度の持続的な衝撃は認められなかった。衝撃消失後は筋は死んでしまう。乳酸も同様であり、濃度を色々かえてもクエン酸ソーダのような頻度の多い持続的な衝撃は得られなかった。

クエン酸、蓚酸、乳酸、リンゴ酸等の刺激では pH が関係しているものであろう。しかし Ringer 液のみで pH を 6.6~7.4 にしても自発性の衝撃は認められなかった。pH の僅かの変化だけで神経衝撃が発生するものではない。

Acetylcholin も衝撃を発生させるが、濃度をいろいろ変えてもクエン酸ソーダのような著明な持続的な衝撃を得ることはできなかった。

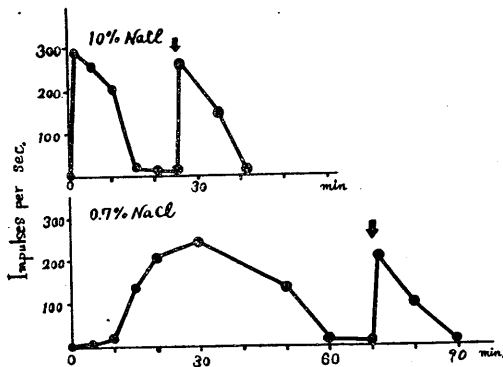
3. 食塩水の場合

0.7% 食塩水に筋を浸すと林等¹⁹⁾の報告しているように数分後に塩縮が起る。筋神経標本ではこの時同時に神経衝撃が発生する。衝撃は第13図下図の様に 5~6 分後より出はじめ、20~30分で最高頻度の 200~300/sec に達し、後徐々



第12図

種々の Ca イオン固定物質による筋刺激神経衝撃



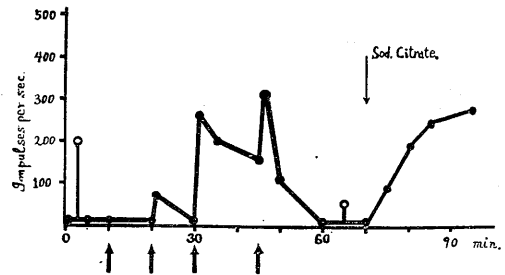
第13図 食塩水を筋に与えた場合の神経衝撃
矢印は1分間の頻数電気刺激を筋に与えた場合。

に減少して行き、約1時間で消失する。食塩水の濃度を高めると衝撃の発現が早くなる。10%食塩水では30秒～1分以内に200～300/secの衝撃を出し、後徐々に減少して15～20分で衝撃は消失する。0.6%食塩水では0.7%とほぼ同様でさらに濃度を下げると衝撃数及び持続時間がみじかくなる。

以上のように食塩水のみでも衝撃は認められるが濃度を色々かえてもクエン酸ソーダや碳酸ソーダのように毎秒数百に及ぶ程の衝撃は得られなかった。Naイオンが持続的の反復興奮を維持するに必要な事は中浜²⁰⁾の報告にもあるごとく明らかな事であるが、高濃度の食塩水による自発性反復興奮はクエン酸ソーダによるものほど著明ではない。これはクエン酸ソーダによる興奮がNaイオンによる他にクエン酸基が刺激として作用していることを示すものである。

4. 筋収縮後の神経衝撃

加藤^{21) 22)}は種々の濃度の食塩水及びRinger液に種々の少量のイオンや麻酔剤を加え、その中で筋や神経線維が単一刺激により周期性興奮を起す事を報告しているが、Ringer液中に於いても頻数刺激によって同様のことがみられる。腓腹筋をRinger液に横たえ神経束や筋を電気刺激して筋収縮を起させ刺激後坐骨神経より衝撃を記録する。刺激は0.5ボルト、2/secを1分間続ける。これを数分間隔で繰返し与える。始めの1～2



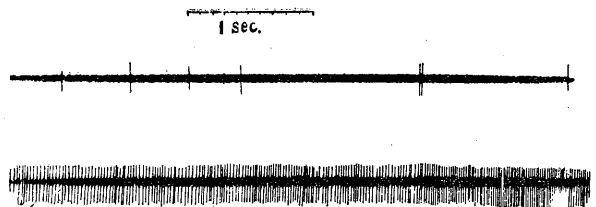
第14図 Ringer液中で1分間の頻数電気刺激
(矢印)を筋に与える。白丸は伸展性衝撃。

回は刺激後も神経衝撃は得られないが、刺激をくり返すうちに衝撃が見られる。これは刺激後数分～十数分続く(第14図)。この時、筋もやはり律動的な収縮を起しているが、筋収縮のなくなった後も神経衝撃は続いている。このような興奮を数回くり返すと筋は、電気刺激にも、伸展刺激にも応じなくなる。

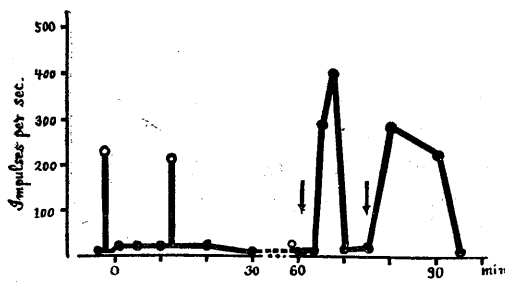
食塩水で自発性の神経衝撃が消失した後同様の電気刺激を神経束に与えて、筋収縮を起させるとやはり刺激終了後10～20分間続く神経衝撃が発生する。

Ringer液の場合も、食塩水の場合も反復興奮の前後に於いてB. T. B試験紙で検してpHの変化は認められなかった。

このような刺激後の反復興奮はクエン酸ソーダにより一層著明になる。2mMのクエン酸ソーダを筋に与え衝撃が僅かに生じている時に神経束或いは筋に数回電気刺激を与えると、その後第15図下段のような衝撃が1～2分続く。これはCaイオン固定により興奮性が高まったものであろう。Ringer液中及び食塩水中で反復興奮の生じたのは何らかの化学物質の生成によるものと考えられる。



第15図 筋刺激クエン酸衝撃と電気刺激後の反復興奮
上; 2mMクエン酸ソーダ作用後40分後。下; その後2回筋を電気刺激して30分後。



第16図

蛙の大腿部の筋を Ringer 液中で電気刺激で強縮を起し、その Ringer 液を他の腓腹筋坐骨神経標本に与えた場合。矢印は 1 分間の頻数電気刺激。

5. 筋刺激後の Ringer 液を作用させた場合
蛙の大腿部の筋をとり、5cc の Ringer 液に入れ電気刺激により 10 分間強縮を起させる。この Ringer 液を他の新鮮な筋に作用させると、神経衝撃が徐々に出て、15~20 分後 200/sec 位になる。この刺激となった Ringer 液も B.T.B 試験紙で pH の変化は認められなかった。なお強縮の時間や放置時間等の変化により常に刺激となるとは限らず、極めて僅か (50/sec) の神経衝撃しか出ないことがある (第16図)。この場合には、興奮性が減少して伸展性衝撃は 60 分後発生しなくなった。しかしその後筋に頻数刺激を与えると著明な神経衝撃を発生した。

6. 小括

a. 蓚酸ソーダはクエン酸ソーダと殆んど同様に作用するが衝撃頻度が僅かに少い。硫酸ソーダは 33mM では殆んど刺激にならない。

b. グルタミン酸ソーダは 33mM では殆んど刺激にならない。

c. Krebs の環中の 2, 3 の物質はその Na 塩でクエン酸ソーダ 1/2~1/3 程度の衝撃を発生させる。乳酸も同様である。

d. pH の僅かの変化では衝撃は発生しない。

e. 食塩水で衝撃の発生がみられ、また Ringer 液中でも筋収縮後衝撃の発生がある。その前後で pH の変化は B.T.B 試験紙で認められなかった。

IV. 考 察

高木, 長谷川, 太田⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽¹⁰⁾等は一連の実験に

より運動時の呼吸促進, 血圧上昇等の変化は, 筋にある化学物質が生じ, これが筋中の化学受容器に作用して化学反射的に呼吸促進が生ずると考えている。その実験では大腿部を緊縛して血流をとめて運動させると著明な呼吸促進が起り運動後も, 下肢の緊縛を除かずに血流を断ったままにしておくと呼吸促進は相当長く持続する。Alam⁽⁸⁾も血圧上昇反射の研究で同様のことを認め, 下肢に生じた物質が重要な役をしていると考えている。このような場合筋は既にその時運動していないのであるから筋の機械的変化による反射とは考えにくい。高木等⁽⁶⁾の想定した如く一種の化学反射と考えるのが至当である。その反射を起す物質は筋収縮時の代謝と関係のあるものが当然第一に考えられる。乳酸, クエン酸等の股動脈注射が著明な呼吸促進を起すことはこの考えを支持する。この想定を確かめるためここに述べた実験が行われた。

クエン酸ソーダは筋に作用させると著明な神経衝撃を発生させるが, しかし実験結果で示したように, それは全部が筋中の特殊の化学受容器に作用して生じたものとはいえない。

クエン酸ソーダは蓚酸ソーダと共に Ca イオンを固定し, 筋や神経の興奮性を高め, 順応を遅くし, 又自発性の反復興奮を起す。この事は Adrian 等⁽¹⁴⁾が蛙の筋で, Matthews⁽¹³⁾が蛙の筋の伸展受容器で, 田崎⁽²³⁾, 大野⁽¹⁶⁾, Brink 等⁽¹⁵⁾が神経線維で, 又 Talaat⁽²⁴⁾, Dun⁽²⁵⁾は蛙の皮膚の受容器で報告している。蛙の皮膚にクエン酸ソーダを作用させると筋神経標本で得たのと同様の自発性の反復興奮がみられる。又クエン酸ソーダを筋に作用させて神経衝撃の得られる閾値と, 神経線維そのものに対する閾値に差がみられなかったことは, 筋中に特別クエン酸ソーダに敏感な受容器を仮定できなかつた。又伸展性衝撃とクエン酸性衝撃の大きさから, この 2 つを区別できなかったことも, 特種な化学受容器を仮定することを困難にする。

クエン酸ソーダが伸展受容器に仿いて, 自発性興奮を起こさせ, 又伸展性衝撃を増加させたことは, クエン酸ソーダの股動脈注射による呼

吸促進反射の中に伸展受容器が化学的に刺激されたことによる部分もあることを考えさせる。しかし運動神経線維でもなく、また伸展受容器に連らならない神経線維で、クエン酸刺激に応ずるもののあることは、なお独自の化学反射の存在を支持するものである。

Bean²⁶⁾は小腸に Anoxia により興奮する化学受容器を仮定しそこから化学反射性呼吸促進を報告している。Euler²⁷⁾は CO₂ 吸入時に呼吸中枢の偽作流の増加することを認め、呼吸中枢に化学受容器の存在を主張している。しかし Bean も Euler もその存在を組織学的に確かめているわけではない。われわれの仮定している骨骼筋の化学受容器も、瀬戸氏鍍銀法²⁹⁾で詳細に調べてみたが、自由終末の他に特殊の受容器を認めることができなかった。わたくしは、1 個のラ氏絞輪にクエン酸ソーダを作用させると衝撃が発生することを認めた。クエン酸ソーダはこのように神経末端部の無髄鞘部に仿いて、実験結果にのべたような筋刺激クエン酸衝撃が発生するものかもしれない。そうだとすると特殊の受容器がなくともすべての線維から衝撃が発生しうることになり、特殊の化学受容器がなくとも、化学刺激による反射は起りうるものと考えられる。クエン酸ソーダは一般的な刺激であって、頸動脈球に於ける O₂ 缺乏や呼吸中枢に於ける CO₂ のように特異性はもっていない。

クエン酸衝撃は一沃度醋酸やシアン化ナトリウムで伸展性衝撃より著るしく減少する。温度の影響も両者の間に差があり、又伸展性衝撃の生じなくなった後にクエン酸衝撃の生ずることもある。これらのことは伸展性衝撃とクエン酸衝撃との発生機序に違いのあることを示すものであり、たとえ伸展刺激と化学刺激とが同じ受容器に仿いたとしても作用機序の異っていることを意味する。

筋を Ringer 液あるいは食塩水中で刺激すると刺激後に神経衝撃が発生する。これは、自発性反復興奮を起さない程度のクエン酸ソーダ Ringer 溶液でも認められるが、その程度ははるかに著明である。前述の運動時或いは運動後

の筋からの化学反射性呼吸促進の求心性衝撃は、これに相当するものであろう。

加藤²¹⁾²²⁾の詳細な研究によると食塩水または僅かの水素イオン濃度を高めた Ringer 液中では単一刺激後容易に反復興奮が生ずる。これは第一次の興奮によって組織中に微量の酸性代謝産物が生じ、これが刺激になって生ずるものであるといわれている。さらに、この反応は麻酔薬や、その他の興奮性を減退させるような障害物に対して生体が現わす 1 種の防禦作用とみなすべきとしている。

運動時の呼吸促進も筋中でこのような機序で衝撃発生が起り、化学反射的に呼吸が促進し、その障害を排除しようとするものとも考えることはできる。しかし、Ringer 液の pH を 6.6~7.4 に変化させても自発性の反復興奮は生ぜず、又電気刺激後著明な神経衝撃を発生した前後に於いても pH の変化は B. T. B 試験紙で調べて変化が認められない程度であったから、pH の僅かの変化だけで衝撃が発生するとは考えられない。何か他の物質が生じてそれが刺激になっているのであろう。

これがクエン酸ソーダのような物質か、乳酸の様なものは明らかでない。前者のような物質とすると興奮性が高まって自発性の、あるいは刺激後の反復興奮をなすものであり、後者の様なものとするとも興奮性は減退し、ある濃度では第一次の興奮後反復興奮を起すものである。

クエン酸ソーダは伸展性衝撃を増加させた。又筋刺激後の Ringer 液を新鮮な筋に作用させた時は、伸展性衝撃を減少させた。しかし、どちらの場合も筋の電気刺激後著明な衝撃を発生させた。

運動時の化学反射がこのどちらの機序によるものか、又どちらの機序も共にあるものかなをにわかに断定できない。

シアン化ナトリウムを濃度を变えて筋に作用させても持続的の衝撃は得られず、又猫の股動脈を両側クレンメで止めて血流を断っても呼吸促進は起らない。このことは筋から化学反射を起す衝撃は頸動脈球のように O₂ 缺乏のみによ

って生ずるのでないことを示す。前述のように筋収縮が起ってある代謝産物が生じなければならないことが必要なのである。

V. 結 語

蛙の筋、神経にクエン酸ソーダ及びその他の化学刺激、伸展刺激を与えて神経衝撃を記録した結果を得た。

1. クエン酸ソーダは、筋、神経線維、神経末端部に作用して自発性反復興奮を起させる。その閾値は2mMである。

2. クエン酸ソーダを筋に作用させて得られる神経衝撃（筋刺激クエン酸衝撃）の3/4は筋中の神経組織から生じたものである。

3. クエン酸衝撃は、筋の収縮とも、筋の弛作流とも同期しない。

4. クエン酸衝撃の大きさは頻度の増加と共に大きくなり、頻度の減少と共に小さくなる。

5. 運動神経線維でなく、また伸展受容器にも連らならない神経線維でも筋のクエン酸刺激に応じて神経衝撃が発生する。

6. 低濃度のクエン酸衝撃と伸展性衝撃とは同一の大きさである。

7. 組織毒によりクエン酸衝撃は伸展性衝撃よりも著明に減少する。

8. クエン酸衝撃に対する温度の影響は伸展性衝撃に対するものより大きい。

9. 硫酸ソーダはクエン酸ソーダと殆んど同様に作用するが衝撃数は僅かに少い。33mM硫酸ソーダは殆んど衝撃を発生しない。

Krebsの環中の物質のナトリウム塩はクエン酸ソーダの1/2~1/3の衝撃を発生する。グルタミン酸ソーダ33mMでは殆んど刺激にならない。

10. pHの僅かの変化だけでは衝撃は発生しない。

11. 食塩水でも衝撃の発生がみられ、またRinger液中でも筋収縮後衝撃は発生する。その前後で、pHの変化はB. T. B試験紙では認められなかった。

以上の事実をもととして、運動時の化学反射

性呼吸促進、またはクエン酸ソーダ動注時の反射性呼吸促進の求心性衝撃の発生機転を考察し、筋に仮定された化学受容器が組織学的に特別なものがなくとも化学反射の起り得ることを述べた。

撰筆するに当り、終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜りました恩師、高木健太郎教授に心から感謝の意を表します。

文 献

- 1) Euler, V. S., and G. Liljéstrand (1946) Regulation of respiration during muscular work. *Acta physiol. Scand.* 12, 268-278
- 2) Asmussen, E., and M. Nielsen (1946) Study on the regulation of respiration in heavy work. *Acta Physiol. Scand.* 12, 171-188
- 3) Hammer, K., und O. Gauer (1946) Zur Frage der Entstehung eines Athmungserregendes Stoffes Während der Muskelarbeit. *Klin. Wschr.* 20, 307-310
- 4) 長谷川 弘 (1947) 運動時の呼吸促進について (第1編) 日本生理誌 10, 206-215
- 5) 長谷川 弘 (1947) 運動時の呼吸促進について (第2編) 日本生理誌 10, 216-223
- 6) 高木健太郎・長谷川 弘 (1950) 運動時の呼吸促進について (第3編) 日本生理誌 12, 243-251
- 7) 太田三郎 (1953) 運動時に於ける血液循環系変化の機序 日本生理誌 15, 93-100
- 8) Alam, M., and F. H. Smirk (1937) Observations in man upon a blood pressure raising reflex arising from the voluntary muscles *J. Physiol.* 89, 372-383
- 9) Harrison, W. G., J. A. Calhoun, and T. R. Harrison (1932) Afferent impulses as a cause of increased ventilation during muscular exercise. *Am. J. Physiol.* 100, 68-74
- 10) 高木健太郎・長谷川 弘 (1951) 運動時の呼吸促進について (第4編) 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
- 11) 高木健太郎・太田三郎 (1953) 筋の化学受容器 日本生理誌 13, 381-384
- 12) 長谷川 弘・島田久八郎 (1954) 運動時の呼吸促進について (5) 骨格筋に於ける化学受容器 日本生理誌 16, 210-215
- 13) Bryan, H. C., Mathews (1931) The response of a single endorgan. *J. Physiol.* 71, 61-110
- 14) Adrian, E. D., S. Gelfan (1933) Rhythmic activity in skeletal muscle fibers. *J. Physiol.* 78, 271-287
- 15) Brink, F., W. Bronk and G. Larrabee (1946) Chemical excitation of nerve. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 47, 470-485

- 16) 大野喜市 (1955) Ca^{++} 除去に依る神経繊維の自発性反復興奮に就いて 日本生理誌 17, 567-576
- 17) 田崎一二 (1944) 神経繊維の生理学 河合書店版
- 18) 林 麟・他 (1949) 骨格筋の塩縮に関する研究 (以下三題) 日本生理誌 11, (会) 13-14
- 19) 杉靖三郎 (1936) 筋の分極性と電気緊張 日本生理誌 1, 330 (学)
- 20) 中浜 博 (1954) 表皮層よりの神経及びその末端に於ける週期的興奮と Na イオンによる自発的興奮 日本生理誌 16, 72-78
- 21) 加藤元一 (1918) 単一刺激による週期性興奮 (神経幹) に就いて 京都帝国大学医学部生理学教室論文集二
- 22) 加藤元一 (1918) 単一刺激による週期性興奮 (筋肉) に就いて 京都帝国大学医学部生理学教室論文集二
- 23) Tasaki, I., and M. Sakaguchi (1950) Electrical excitation of the nerve fibers Part II. Jap. J. Physiol. 1
- 24) Talaat, M. (1933) The effect of ions on the Cutaneous sensory endings of the frog. J. Physiol. 79, 503-507
- 25) Dnu, F., C. R. Finley (1938) The rate of adaptation of cutaneous nerve endings in the frog. J. Physiol. 94, 170-176
- 26) John, W. Bean (1952) Intestine in Reflex chemical Control of Breathing. Am. J. Physiol. 171, 522-527
- 27) C. von Euler, and V. Söderberg (1952) Medullary chemosensitive receptor J. Physiol. 118, 545-554
- 28) Hachiro, Seto (1951) Silver Impregnation for nervous system being used in our laboratory. Tohoku J. Experiment. Med. 54, 85-89

Summary

It was previously reported by Takagi, Hasegawa and Ôta that augmentation of respiration during the physical exercise is due to the chemoreflex from chemoreceptors in skeletal muscles. They supposed that these chemoreceptors are stimulated by lactic acid, citric acid and the other substances which relate to the glycolysis in skeletal muscles.

In this paper the effect of Sod. citrate upon the nerve and muscle are studied with the hope of making sure the presence of chemoreceptor and chemoreflex.

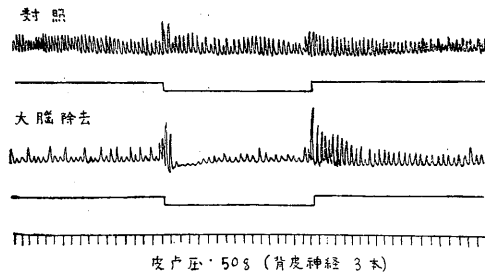
Sod. citrate being applied on the muscle in nerve preparation, nerve impulses are obtained (A case). Sod. citrate is directly effective upon the nerve fiber (B case). The thresholds of Sod. citrate is 2 mM in the A and B cases, but in the A case the frequency of impulses is four times greater than in the B case. Nerve impulses in the B case are not synchronous with the action currents of muscles. Frequency and magnitude of impulses increase in the similar time courses by the application of 2-3 per cent Sod. citrate.

These nerve impulses were compared with the impulses derived exclusively from muscle spindle. There is no clear difference of the magnitude between both kinds of impulses. Nerve impulses of A case are obtained from nerve fiber which innervate the muscle spindle. But in the examination in sciatic nerve gastro-cunemius preparation, clear difference was observed in the effects of poisons and temperature between the citrate-discharge and spindle discharge. Effects of Sod. oxalate is similar to that of Sod. citrate.

After the tetanisation of muscles, nerve impulses are obtained. But these impulses are not the same kind as the citrate discharge. Considering these results, the author concluded that the presence of chemoreceptors is doubtful, but chemoimpulses are exist.

(Dept. of Physiol. School of Med. Niigata Univ.)

計時器 TR は竹井製タイム・マーカーを用いて 0.1 秒毎に書尖 T を動かし煤紙に記録した。



第2図

呼吸に及ぼす皮膚圧刺激効果(分銅50g, 背皮神経3本) 上方の図は対照, 下方の図は前脳除去時(第3図以下も同様). 皮膚圧による換気呼吸及び口腔底呼吸の両方の抑制効果が前脳除去時の方がより著明になる.(図は煤紙に描記した曲線をトレースしたもの, 第3図以下も同様).

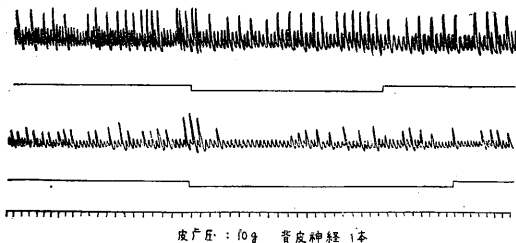
Ⅲ. 実験成績

A. 対照実験

1. 圧刺激効果

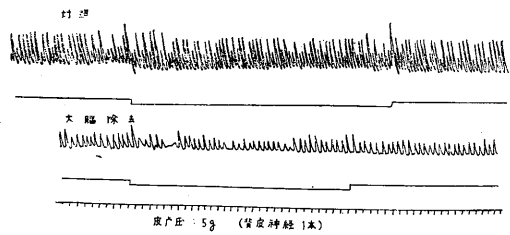
対照実験として脳を露出ただけで皮膚に圧刺激を与えると, 既に知られているように⁸⁾¹³⁾, 分銅を皮膚片上にのせる際(第2図及び3図の上), 又は clip で皮膚を挟む際(第5図の上)やこれらの刺激を除く際に対応して一過性の大きな呼吸運動が1回乃至数回見られた. 分銅の重さが小さい時には, この一過性の大きくなる呼吸運動の振巾の大きさは小さく, 又その回数も少くなったりする(第4図の上). そして場合によっては全く変化の見られない事もあった.

皮膚片に分銅をのせ終った後, 及び皮膚片を clip で挟み終えた後の持続的な圧刺激に対応して刺激前よりも換気呼吸運動が小さくなる場合(第3図及び4の上)や大きな型の運動(主に換



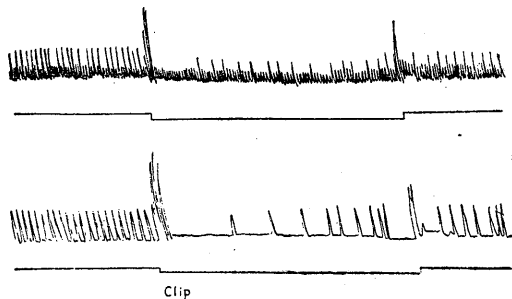
第3図

呼吸に及ぼす皮膚圧刺激効果(分銅10g, 背皮神経1本) 前脳を除去すると皮膚圧による換気呼吸の抑制効果が著明になる(口腔底呼吸における変化はよく解らない).



第4図

呼吸に及ぼす皮膚圧刺激効果(分銅5g, 背皮神経1本) 対照(上方の図)では明瞭に抑制効果が見られぬが, 前脳を除去すると呼吸抑制的效果が明瞭に認められる(下方の図). しかし背皮神経の数が多く, 刺激の強さも大である場合(第2図及び第3図)程は著明ではない.



第5図

呼吸に及ぼす皮膚圧刺激効果(clip 1kg, 背皮神経3本) 対照(上方の図)よりも呼吸抑制的效果が前脳除去時(下方の図)により著明に認められる.

気呼吸)が消失して小さな型の運動(口腔底呼吸)のみになる場合(第5図の上)等が見られた. 以上の諸結果は佐藤⁹⁾及び前報¹³⁾にて見出されたものと同じ効果である.

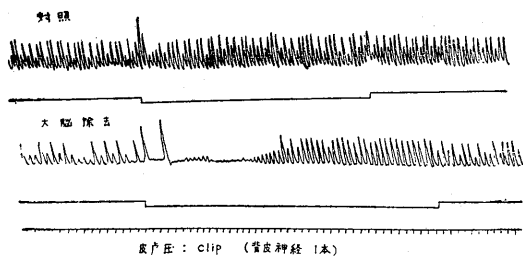
2. 触刺激効果

脳を露出ただけで, 前述の方法で触刺激を与えると, 佐藤⁹⁾及び前報¹³⁾の結果と同様に一過性の大きな呼吸運動が見られた(第8図及び9の上).

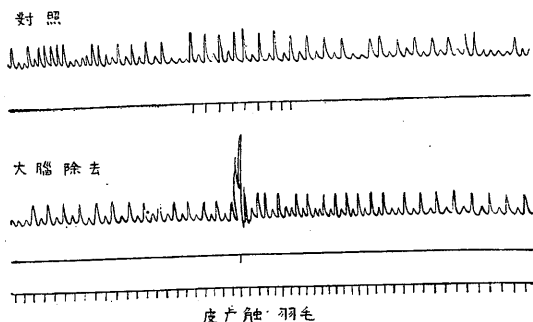
B. 前脳除去後の皮膚圧及び触刺激効果

1. 圧刺激効果

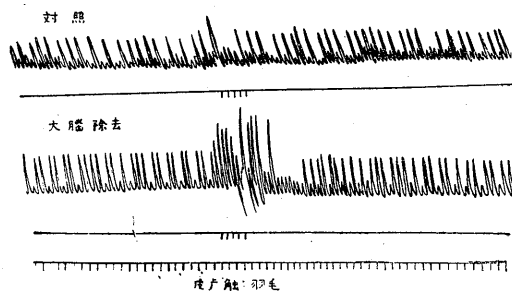
対照実験を終えた後, 前脳を除去し皮膚に圧刺激を与えた. この時, 与え始める際や除去する際の時間的空間的に変化する刺激に対応する一過性の呼吸促進効果は前脳除去前よりも, より著明になる(第2, 3及び5図). 但し圧刺激が弱いとき, および皮膚と身体とを連絡する背皮神経の数の少い時には不明瞭のことが少くな



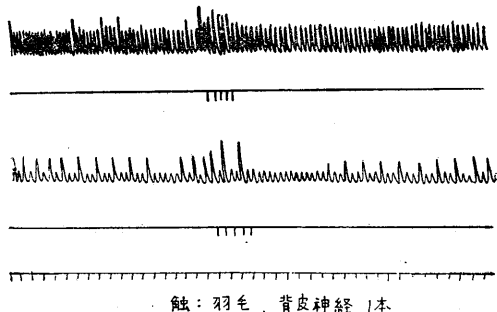
第6図 呼吸に及ぼす皮膚圧刺激効果 (clip 1kg, 背皮神経1本)
第5図の場合より軽度ではあるが同様な効果が見られる。



第7図 呼吸に及ぼす皮膚触刺激効果 (背皮神経3本)
対照の上図では触刺激9回行った。前脳を除去した下図では只1回の触刺激でより著明な呼吸促進効果が見られる。



第8図 呼吸に及ぼす皮膚触刺激効果 (背皮神経1本)
対照 (上図) よりも著明な呼吸促進効果が前脳除去時 (下図) に見られる。



第9図 呼吸に及ぼす皮膚触刺激効果 (背皮神経1本)
第7図及び第8図の場合より軽度ではあるが同様な効果が見られる。

い (第4図)。

上述の一過性の呼吸促進効果に続いて現われる圧刺激効果も前脳除去前に比べると、より著明である (第3, 4, 5及び6図)。なお上述の効果は一般に皮膚片と身体とを連絡する背皮神経の数が多い方がより著明であった (第5及び6図)。

2. 触刺激効果

対照実験の後、前脳を除去して触刺激を与えてみると、一過性に現われる大きな呼吸運動は除去前に比べ、より大きくしかもその回数も亦多くなる (第7及び8図)。第7図では前脳除去前の刺激回数よりも少い只1回の触刺激でこのように著明な促進効果が見られており、第8図では同じ刺激回数で前脳除去後には呼吸運動ばかりでなく、他の諸筋の活動まで誘発されて身体が動いたことをも示している。皮膚片と身体を連絡する背皮神経が1本だけの場合にもその程度は弱いと同様である (第9図)。

IV. 考 察

カエルの頭蓋を開いて脳を露出した後の呼吸運動に対する皮膚の触及び圧刺激効果は佐藤⁸⁾や前報¹³⁾と同様であった。ところが、前脳を除去すると触刺激では除去前に比べてより著明な促進効果が見られ、圧刺激ではより著明な抑制効果が見われた。従って前脳は皮膚-呼吸反射に対して無視出来ぬ役割を演じていることが解る。

堀²⁾は鳩において大脳を切除すると腓腹筋や前脛骨筋のクロナキシーが切除前よりも減少することを見出しているが、これは大脳がこれらの骨骼筋の活動に対して抑制的に支配することを示している。この他、人間で脳出血やその他の脳傷害により膝蓋腱反射が昇進することはよく知られているが、これらは背髄における反射性興奮に対する大脳の抑制的支配を意味するにすぎない。

しかし前述の実験結果から延髄に中枢のある呼吸筋に対しても前脳が重要な役割を演じてい

ることが解る。しかも前脳を除去すると、除去前に比べて触刺激による呼吸促進の効果及び圧刺激による呼吸抑制的效果が何れもより著明になることは、前脳には促進的呼吸反射及び抑制的呼吸反射の何れに対しても過剰にならぬようにしているといえよう。

従って前脳には外的刺激による呼吸反射が強まりすぎること、又逆に弱まりすぎることなく、適度の呼吸にとどめて呼吸運動の恒常性を保持しようとする自己調節機能があるといえよう。

松本³⁾は猫において、皮質麻酔薬といわれるエチル・エーテル吸入麻酔時の圧発汗反射が脳幹麻酔薬の1つであるウレタン注射麻酔時よりもより著明に現われることを見て発汗中枢は緊張的に大脳皮質から抑制的影響を受けると考えている。これは大脳が促進的発汗反射を強まりすぎぬように調節していると解することができる。他方、小口、山崎及び岡井等⁹⁾は半側の皮質を除いた猫及び家兎で皮膚圧迫の効果が除去側四肢筋よりも対側の四肢筋により著明になることを見出している。すなわち、これらの実験によると猫や家兎の高等動物において大脳皮質が外的刺激に対応する反射的效果を強まりすぎぬよう、又弱まりすぎぬように調節していることを示すといえよう。従ってこれらのカエルよりも高等な動物の大脳にもカエルの前脳と同様な自己調節機能があることが裏書されている訳である。

延髄にある呼吸中枢は更に上位中枢からの影響を受けることは、よく知られている。その中で大脳皮質からの影響として Smith¹⁰⁾は犬の大脳皮質に適度の強さの交流電気刺激 (60c/s) を与えた場合に、前S字状回転 (anterior sigmoid gyrus) の外側部では呼吸促進を、前複合回転 (anterior composite gyrus) の嘴部では呼吸抑制を見ている。更に Smith¹¹⁾は犬、猫及び猿で同様の実験をした結果、犬や猫では前S字状回転 (anterior sigmoid gyrus) の外嘴部及びシルビウス前溝 (sulcus praesylvius) の尾側部、猿では上中心前溝 (sulcus centralis superior) の

嘴部で呼吸促進を見た。なお犬や猫の前複合回転 (anterior composite gyrus) で、猿では下中心前溝 (sulcus praecentralis inferior) の下端部では呼吸抑制がおこることを実証した。さらに Barily や Sweet¹⁾ はの猿前頭葉及び19領野の交流電気刺激 (60c/s, 1~6V) で呼吸停止を見ている。然し、これらの諸実験は上位中枢のある一定部位を電氣的に刺激すると呼吸運動に対して促進又は抑制の効果があるということにとどまっているが、これらの上位中枢はカエルの場合と同様な役割を果しているのではなからうか。それについては今後追究していくつもりである。

V. 結 語

1. トノサマガエル (*Rana nigromaculata*) を用いて皮膚-呼吸反射に対する前脳の役割を追究して次の諸結果を得た。

2. 前脳を除去すると皮膚の触刺激による呼吸促進の効果は除去前に比べてより著明になる。

3. 皮膚の圧刺激効果も前脳を除去すると呼吸抑制的效果が除去前に比べてより著明になる。

4. 以上の諸結果から、カエルの前脳には外的刺激による反射的な呼吸促進及び呼吸抑制が強まりすぎぬようにする自己調節機能があるといえよう。

本実験には、恩師佐藤謙助教授の御指導をいただいた。記して深謝の意を表する。

文 献

- 1) Bailey, P. and W. H. Sweet (1940) Effect on respiration, blood pressure and gastric motility of stimulation of orbital surface of frontal lobe. *J. Neurophysiol.* **3**, 276-281
- 2) 堀 浩 (1955) 筋クロナキシーと中枢神経の生理-電気生理と形態に関する方法論 1-7 岩波書店 東京
- 3) 松本良二 (1955) 圧発汗反射の中枢性経路について *日本生理誌* **17**, 263-270
- 4) 小口周男・山崎恒雄・岡井一夫 (1954) 肺容積及び皮膚圧迫の骨格筋緊張に及ぼす影響 (筋電図学的研究) *日本生理誌* **16**, 253-254
- 5) 佐藤謙助 (1953) 皮膚触、圧刺激の脳波への影響

- と脳波の生理学的解釈 生体の科学 5, 85-89
- 6) 佐藤謙助 (1954) 脳波に対する感覚刺激の影響に関する研究 (第1報) 蛙の皮膚圧迫時の大脳脳波について 脳と神経 6, 315-319
- 7) 佐藤謙助 (1955) 脳波に対する感覚刺激の影響に関する研究 (第2報) 皮膚圧迫及び触刺激時の無麻酔蛙の嗅脳脳波について 脳と神経 7, 273-275
- 8) 佐藤謙助 (1954) カエルの呼吸, 心臓及び筋活動に対する皮膚圧迫効果について 日本生理誌 16, 597-604
- 9) 佐藤謙助 (1955) カエルの呼吸及び心臓運動に対する皮膚触刺激効果について 日本生理誌 17, 46-50
- 10) Smith, W. K. (1936) Alteration of respiratory movement induced by electrical stimulation of cerebral cortex of dog. Am. J. Physiol. 115, 261-267
- 11) Smith, W. K. (1938) The representation of respiratory movements in the cerebral cortex. J. Neurophysiol. 1, 55-68
- 12) 福原 武 (1950) 生理学実験法 223 南山堂 東京
- 13) 山本喜昭 (1955) 皮膚反射に関する研究 皮膚-呼吸反射について 長崎医学会誌 30, 573-579

Summary

- 1) The rôle of fore-brain to cutaneo-respiratory reflex of frogs was investigated.
- 2) By removing the fore-brain, the augmentative effect on the above reflex due to cutaneo-touch stimulus was found to be more remarkable.
- 3) The inhibitory effect on the above reflex due to cutaneo-pressure stimulus was recognized to be clearer by the same treatment as well.
- 4) From the above results, it seems likely that there is in the fore-brain a self-regulating function, which control not to increase so strongly the reflexogenic respiratory excitation and inhibition.

(Dept. Physiol., Nagasaki Univ. School of Med.)

瀉血並びに輸血時のストレス症候としての過血糖及び

血液凝固能昂進に就いて 612-083: [612.122+612.115.2

Studies on the Hyperglycemia and the Acceleration of the Ability of Blood Coagulation as the Symptom of Stress after the Phlebotomy or Transfusion.

宮 下 勉 (MIYASHITA-Tsutomu)*

I. 序 論

瀉血及び輸血の際、何れも過血糖を凝血能昂進を発現する事に就いては多くの先人例えば、Alexander Partos u. Franz Sveé¹⁾, Scudler J. Drew²⁾, 神沢、武及び中西等に依り既に確認せらるる処で、しかも Cannon³⁾に依るとこの2現象は一般に stress に伴う交感神経-副腎髓質系の活動に由来する共通現象であると解釈されている。

著者は血糖値及び血液凝固時間の変動が生体に与えられる各種実験条件に屢々対応した関係を保持するものであるとの事実に興味を抱き、特に瀉血及び輸血と云う一見相反する stressor に対する場合でも、果して同一機序で発現するか否かに疑問を持った。其処で著者は瀉血及び輸血に際する血糖値上昇並びに血液凝固時間短縮が、種々なる附帯条件に依って如何に影響されるかを比較検討した。

なお、条件としては肝機能障害、RES 填塞、副腎剔出、Benzyl-imidazolin 投与および Phenobarbital 投与の各例を撰び夫々の条件下で瀉血及び輸血の影響を検索した。

II. 実験方法

実験には体重 2.0kg 前後の白色成熟家兔を用い、一定量の豆腐滓を以て飼育、実験前12時間以後は食餌を絶って其れによる影響を避けた。尚、毎回縛縛過血糖を起さざるよう特に留意した。

血糖定量は Somogyi 法⁴⁾に拠り、血液凝固時間は Bürker 法に準拠せる凝固時間測定法を

使用した。

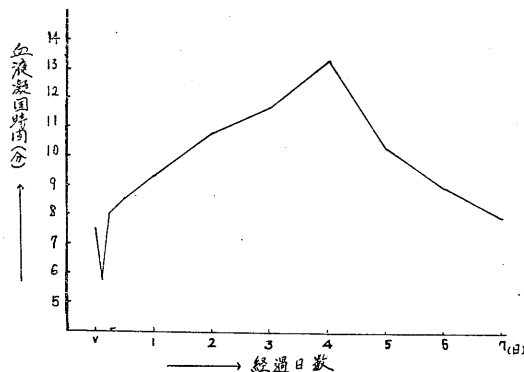
III. 実験要領

瀉血実験では両側の耳翼基部の大なる血管を切断し所要量を出血せしめ、輸血実験では採取血液に1%の割合に10%クエン酸ソーダを加え血液凝固を防止し、2時間6°Cの氷室にて保存して、然る後二重の滅菌ガーゼにて濾過し、大体家兔体温に一致する迄加温して輸血した。

瀉血及び輸血の条件附与速度とか量の決定に關しては、予備実験を行った結果、瀉血の場合は5ccを3分の速度で15cc/kgが、輸血の場合は5ccを20秒の速度で8cc/kgが夫々略々同程度の血糖上昇発現を見、従って一応同程度の stress が招来されるものと考えこの条件で統一を期した。

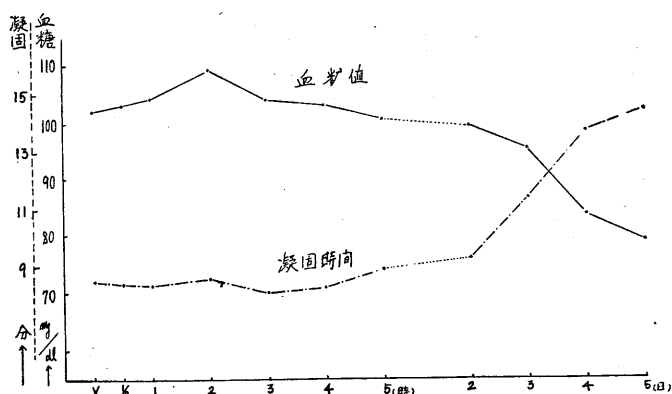
A. 肝機能障害を惹起せしめるため、20%四塩化炭素オレフ油を0.5cc/kg皮下注射し、その示標としての凝固時間が投与後4日目に最も延長したのでこの時期の家兔を使用した(第1図)。

B. RES 填塞の為、純良なる唐墨を生理的

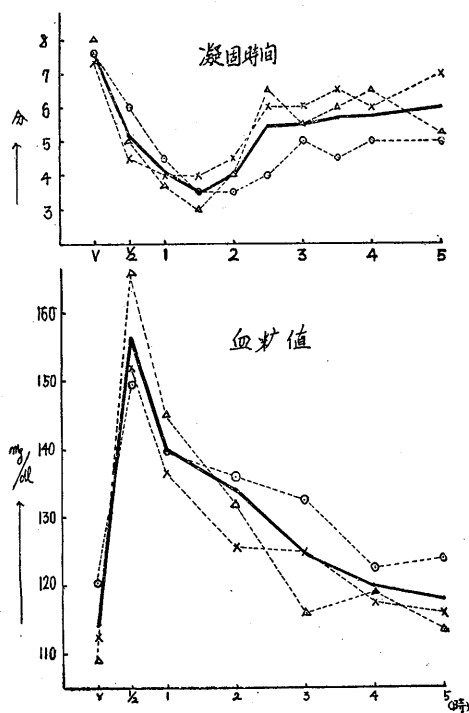


第1図 肝障害例に於ける血液凝固時間の変動

* 東京医科大学病院中央研究科生理学教室



第2図 墨汁連日投与に於ける血糖値及び血液凝固時間の変動



第3図 健康例に於ける瀉血の影響

食塩水を注いで能く研磨，開明墨汁の生理的食塩水20%稀釈液と同等濃度を標準とし是を6°C温水中で30分間重湯煎後，家兎体温との一致を計り5cc/kg 宛毎日1回5日間静脈投与した。斯くすればRESは填塞せられるとされているので翌日其家兎を実験に供した(第2図)。

C. 副腎剔除は福田術式¹²⁾に拠り一応手術的侵襲消失するとされる術後7日目に於いて実験した。

D. Benzyl-imidazolin (以下BIと略す) 投与は5mg/kg皮下注射し30分後に実験を行った。

E. Phenobarbital (以下PBと略す) 投与は50mg/kg皮下注射し30分後に実験を行った。

IV. 実験結果

A. 瀉血時の血糖値並びに血液凝固時間の変動

1. 健康例 (第3図)

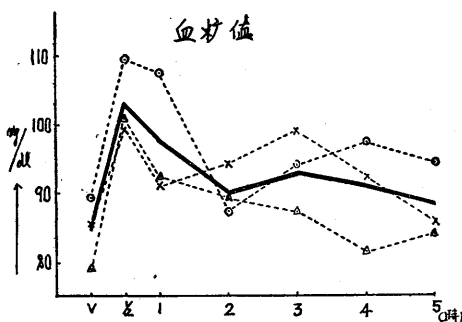
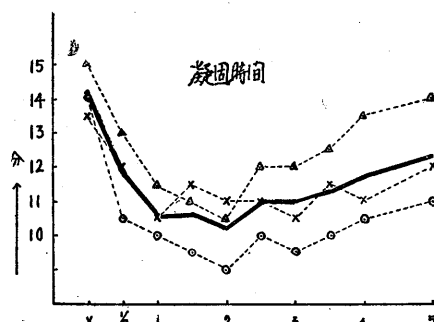
血糖値は急激に増加し1/2時間後に37%(以下凡て平均値で示す)の増加を認め5乃至6時間後に復元する。又，凝固時間は1乃至1 $\frac{1}{2}$ 時間後に最も短縮し54%である。

2. 肝障碍例 (第4図)

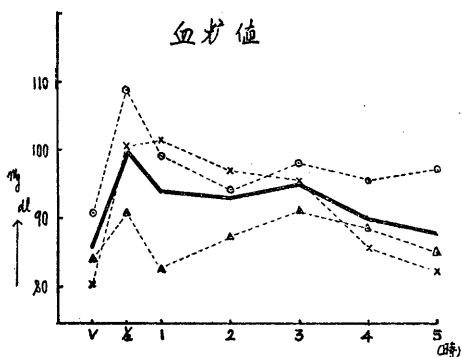
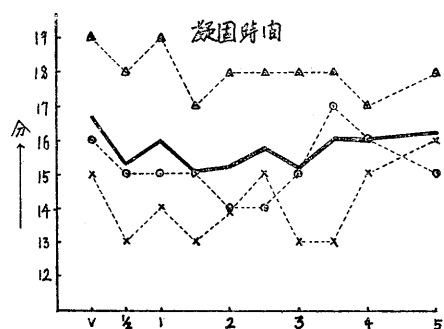
血糖値は1/2時間後に21%の増加を示し，凝固時間は2時間後に28%の短縮を見，何れの変化も健康例に比し減弱している。

3. RES填塞例 (第5図)

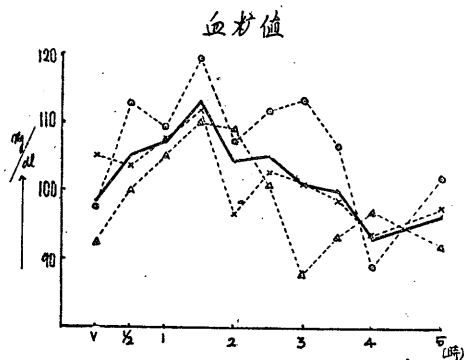
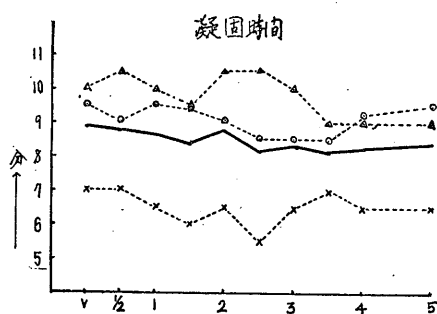
血糖値は1/2時間後に16%増加，凝固時間は1 $\frac{1}{2}$ 時間後に10%短縮するのみで変化は著しく



第4図 肝障碍例に於ける瀉血の影響



第5図 RES 填塞例に於ける瀉血の影響



第6図 副腎 膵出例に於ける瀉血の影響

抑制される。

4. 副腎 膵出例 (第6図)

血糖値は $1\frac{1}{2}$ 時間後に12%増加, 凝固時間は $2\frac{1}{2}$ 時間後に8%短縮と軽微な変化を起すに過ぎない。

5. B I 投与例 (第7図)

血糖値は $1\frac{1}{2}$ 時間後に13%の増加, 凝固時間は3時間後に19%短縮を見る。

6. P B 投与例 (第8図)

血糖値の増加は認められず, 寧ろ少々減少の傾向を又, 同様凝固時間も多少延長の傾向を有し stress 症候の殆んど消失するのが特徴である。

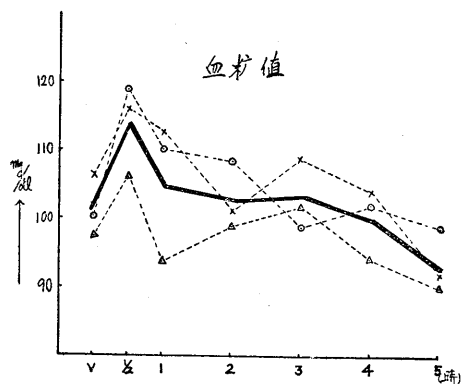
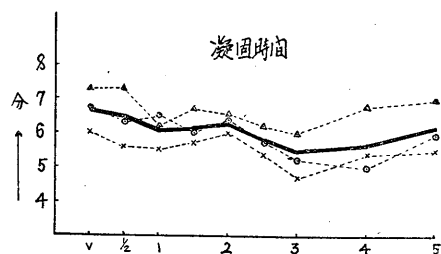
B. 輸血時の血糖値並びに血液凝固時間の変動

1. 健常例 (第9図)

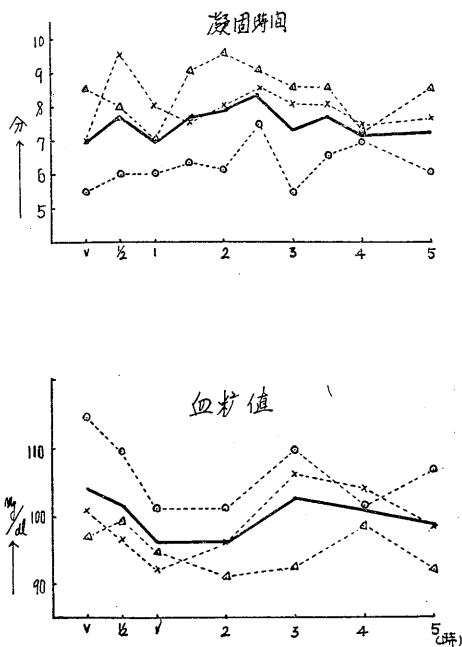
血糖値は $1\frac{1}{2}$ 時間後に32%の増加を示し以後瀉血の場合よりも比較的緩徐に下降し, 凝固時間は1時間後に43%の短縮を示し, 以後徐々に回復する。

2. 肝障碍例 (第10図)

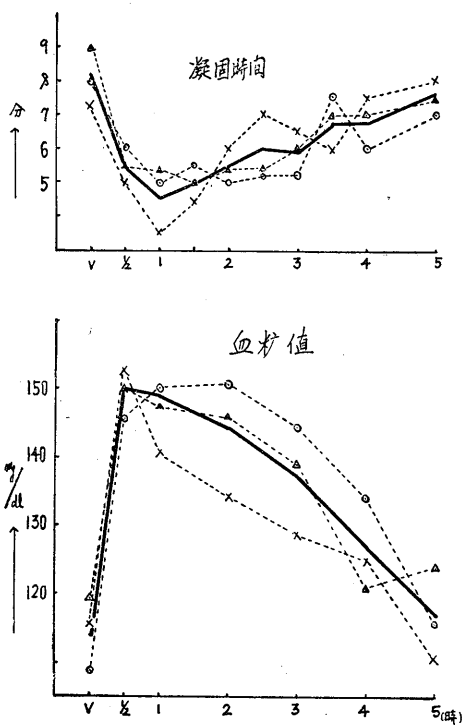
血糖値は $1\frac{1}{2}$ 時間後に18%の増加のみで著しく抑制される。然るに凝固時間に於いては1乃至 $1\frac{1}{2}$ 時間後に38%の短縮でそれ程阻碍されて



第7図 B I 投与例に於ける瀉血の影響



第8図 PB投与例に於ける瀉血の影響



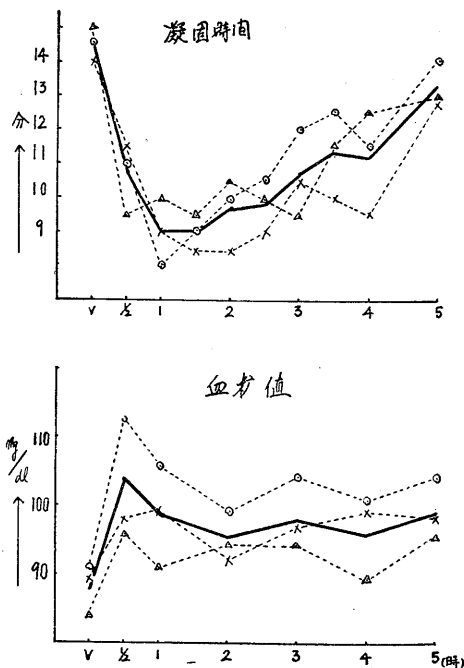
第9図 健常例に於ける輸血の影響

いない。

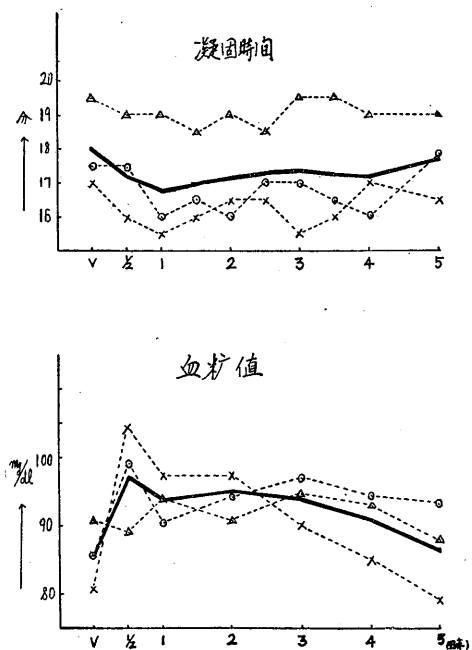
3. RES 填塞例 (第11図)

血糖値は1/2時間後に13%の増加を示し、肝

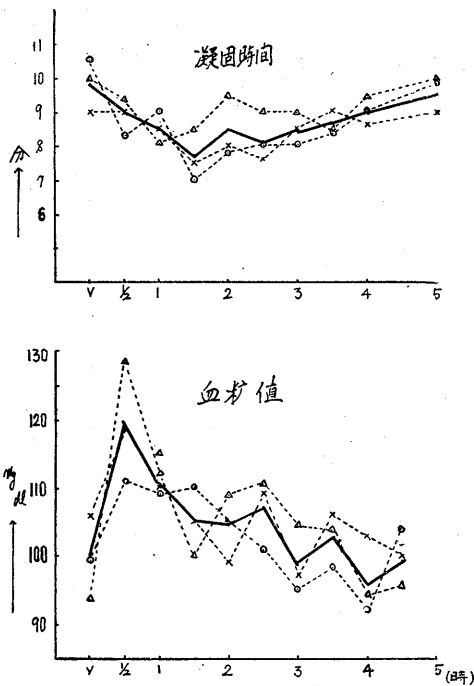
障碍例に於けるよりも高度の増加抑制を見、凝固時間は1時間後に7%の短縮を呈するのみで殆んど変化が認められない。



第10図 肝障碍例に於ける輸血の影響



第11図 RES 填塞例に於ける輸血の影響



第12図 副腎剔除例に於ける輸血の影響

4. 副腎剔除例 (第12図)

血糖値は1/2時間後に20%増加を示し以後漸減するが、凝固時間は1 $\frac{1}{2}$ 時間後に28%の短縮を示した。

5. BI投与例 (第13図)

血糖値の増加は殆んど認められず寧ろ軽微な下降の傾向を示し、且つ凝固時間にも、短縮は認められず寧ろ稍々延長後僅かに短縮の変動傾向を呈した。

即ち、輸血に伴う stress 症候がこの意味に於いては殆んど出現しない。

6. PB投与例 (第14図)

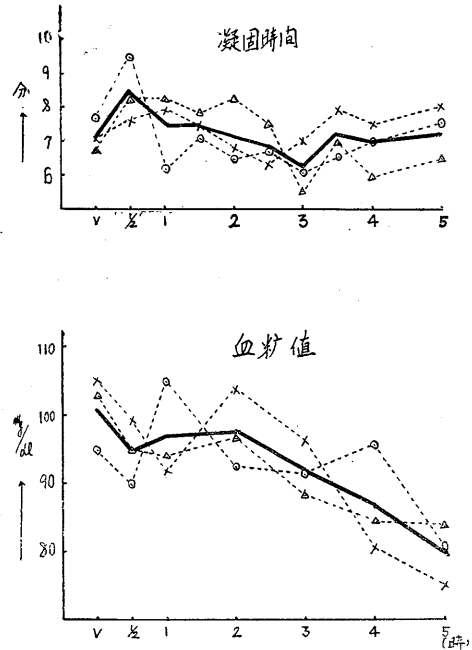
血糖値は1/2時間後に20%増加を示した後に緩徐な減少を来すも、一方凝固時間にては1 $\frac{1}{2}$ 時間後に37%の短縮が見られ両者の増加及び短縮阻碍の程度は僅かであり、瀉血時の成績とは著く異なっている。

小括 (AB及びB)

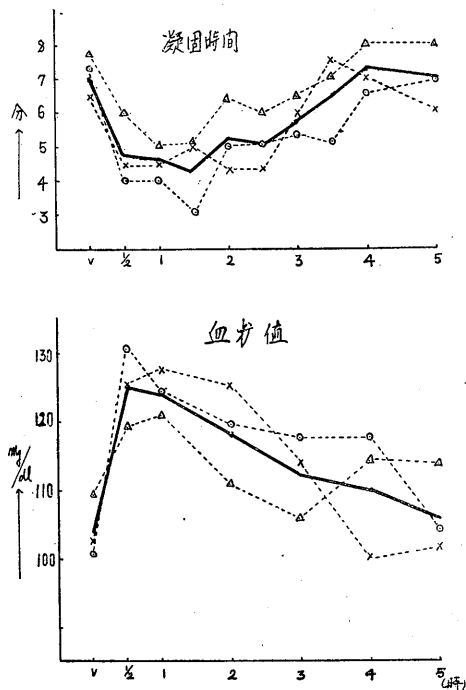
以上の成績を見るに各種条件による血糖値の増加率変化は血液凝固時間の短縮率変化と略々平行する。

即ち、瀉血実験に於ける血糖値の増加率は健

常例>肝障碍例>RES填塞例>BI投与例>副腎剔除例>PB投与例の順となり、凝固時間短縮率は



第13図 BI投与例に於ける輸血の影響



第14図 PB投与例に於ける輸血の影響

健常例>肝障害例>BI投与例>RES填塞例>副腎剝出例>PB投与例の順となり、両者の順列は略々一致する。

又、輸血実験に於ける血糖値の増加率は、健常例>PB投与例、副腎剝出例>肝障害例>RES填塞例>BI投与例の順となり、凝固時間短縮率は

健常例>肝障害例、PB投与例>副腎剝出例>RES填塞例>BI投与例の順となり、両者の順列も亦略々平行する。

即ち、ここに血糖値増加及び血液凝固時間短縮は何れも、互いに相当する stress 症候と看做すことが出来よう。

然し乍ら、ここに極めて注目し値する処は、是等 stress 症候の抑制条件が瀉血及び輸血の各場合に於いて著しく相違を見ることである。

即ち、瀉血に際してはPB投与及び副腎剝出が最も stress 症候抑制条件として著明で、是に対して輸血ではBI投与及びRES填塞が著明な抑制現象を呈示している。

ここに同一 stress 症候として出現する血糖増加及び血液凝固時間短縮の現象が恐らく別個の誘因によって起るものと考えざるを得ない。

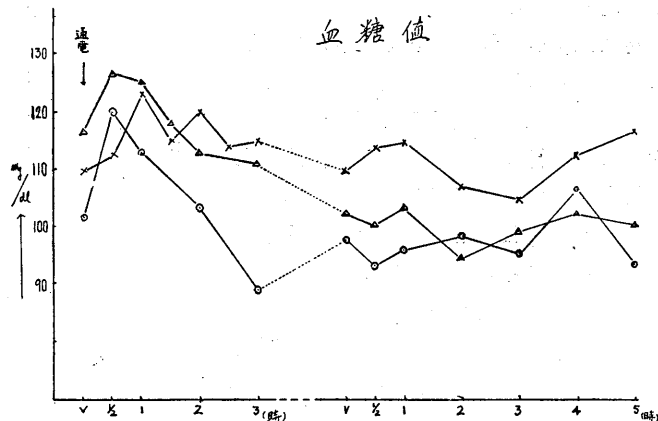
瀉血による stress 症候は副腎恐らくは adrenalin 分泌によって招来されるものと考えられ、PBはその中枢性機序を抑制するものと解せられる。

又、輸血時に於いての stress 症候出現に対し、その様な抑制が顕著に見出されないことは Cannon の指摘した機序以外の機構による事を教えるものであり、ここに是れが如何なる機構によるものであるかを解明する必要がある。

そこで次の実験を行った。

C. 視床下部交感帯凝固破壊に依る瀉血及び輸血への影響

Diathermy 使用の黒津、清水の



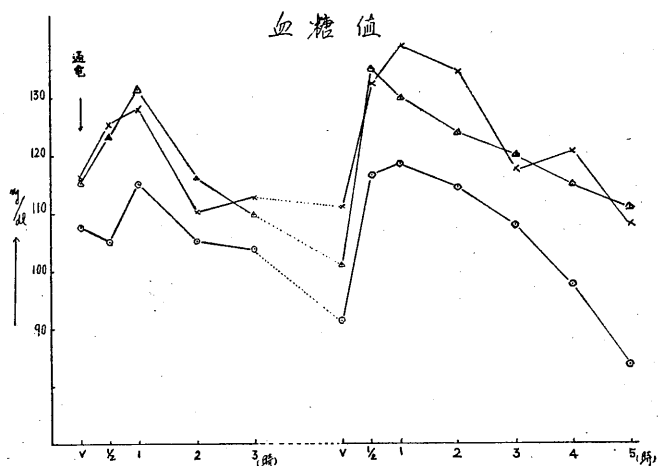
第15図 視床下部交感帯凝固破壊に於ける瀉血の影響

法¹¹⁾に準拠しその電導子保持装置を家兎頭蓋に固定し、単極電導子を腹内側核に刺入、30mA、10秒間通電後の血糖値の変動を見るに軽度増加後3乃至4時間で復元し以後漸減の傾向を示した(第15, 16図)。

而して翌日、24時間後に於いて是等家兎で瀉血及び輸血を行った。

瀉血の場合は殆んど血糖増加を認めず、(第15図)、輸血の場合は1/2乃至1時間に急峻なる血糖増加(30%)を認めた(第16図)。

以上の実験結果はPB投与時に於ける瀉血及び輸血時の変動と略々同様であることから、瀉血による過血糖には中枢関与が必要であり、又輸血の場合にはそれをそれ程に必要としないこ



第16図 視床下部交感帯凝固破壊に於ける輸血の影響

とが考えられる。

更に又輸血に際してBI投与及びRES填塞により最も著しい障害を現わしたことが、即ち、血糖値増加及び血液凝固時間短縮の両者がこの際に於いて肝実質障害例よりも墨汁注入によるRES填塞例に於いてより著しく抑制されたことを考えるとRESが最も重要な手懸りを出すことは容易に考えられる処である。

恐らくそれが刺激興奮によって刺激される事によりstress症候が出現するものと考えられるが、それが障害される機序が詳かでなく、更に又、BI効果に就いてはその作用点及びその機構に関しての解釈は簡単には行われぬ。そこでこれらの点を多少でも明かにする意味で次の実験を行った。

D. 視床下部交感帯刺激の過血糖に対するBI抑制効果

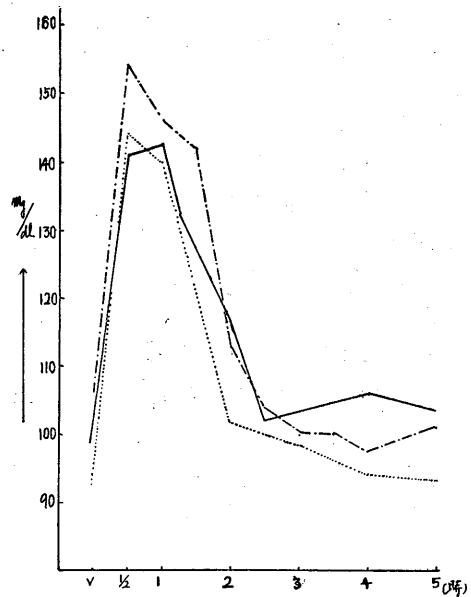
stress時の過血糖招来に関し是等が交感神経興奮に由来すると考えることは妥当とされ、ここに視床下部刺激（以下視下刺と略す）によって招来される過血糖が副腎剔出及びBI投与により如何なる影響を及ぼすかを追求し、過血糖発現機序に就いて考察を行うこととする。

視下刺は黒津、清水法¹¹⁾に拠り、交感帯刺激を行い、ここに用いたBI量は5mg/kgである。

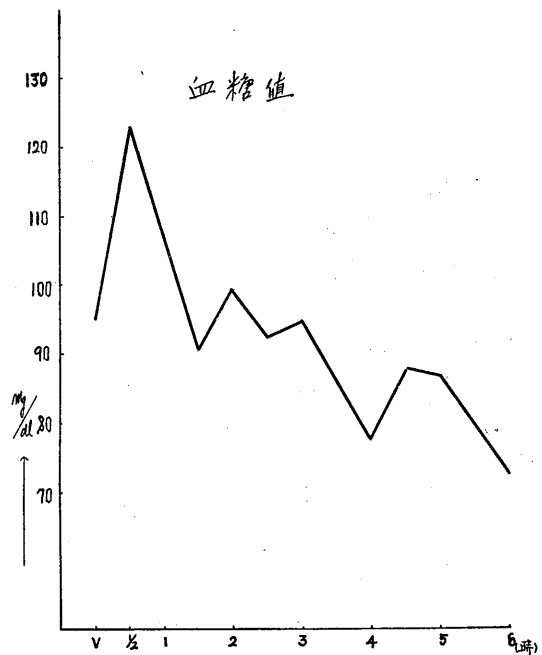
尚、実験C及びDに於いては実験後、各実験毎に脳組織の摘出を行い組織学的検索を行い視床下部交感帯及び刺激部位を確認し不確実なるものは除外した。

視下刺は健常家兎に於いては急俊なる血糖増加(50%)を発現し1乃至1½時間後急激に下降し2乃至3時間後に復元する(第17図)に反し、副腎剔出の場合にはその血糖増加度は約半減し且つ、過血糖期短縮し3乃至4時間後には寧ろ低血糖を示す(第18図)即ち、視下刺による過血糖は副腎皮質及び髓質の機能的関与に由来するものと解せられるがその一部は明かに副腎を介せず恐らく直接肝を含めたRES刺激による結果として出現するものと解せられる。

次に健常家兎その静脈注射投与により一過性低血糖を示す事を確認し(第19図点線)1過後



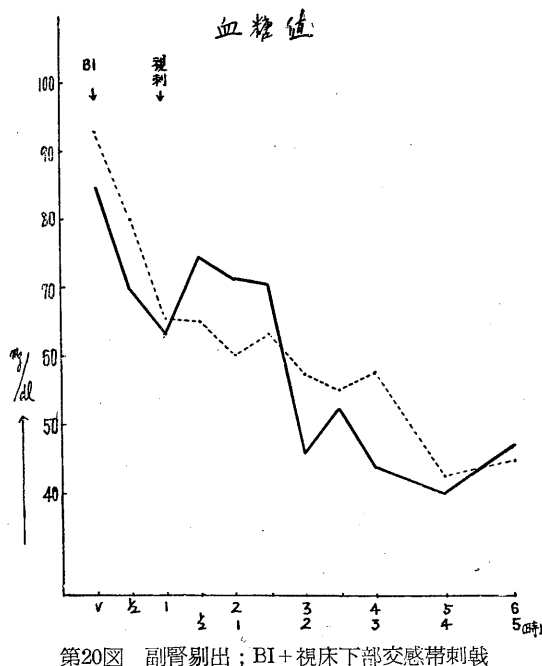
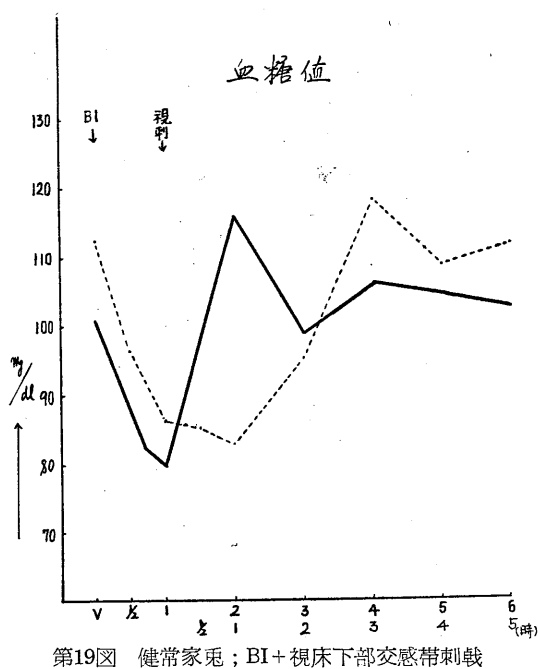
第17図 健常家兎；視床下部交感帯刺激



第18図 副腎剔出；視床下部交感帯刺激

再びBI投与をし低血糖を示す時期に於いて視下刺を行うと、可成りの過血糖反応を尙し、且つ早期に恢復することを知る(第19図実線)。

是に反して副腎剔出家兎にBIを予め投与すると低血糖が顕著に発現する(第20図点線)。同



様に副腎剔除家兎にBI投与の前処置の上、視下刺を行うと極めて軽微な一過性の血糖増加を来すに過ぎないことを知った(第20図実線)。

是等の実験結果を綜合するにBI作用時に於

ける視下刺過血糖は、副腎の健在な場合は比較的軽微でありまた、adrenalin 分泌機転の介入しない条件での血糖増加に対しては著しく抑制されることを知る。換言すれば adrenalin 分泌ならびに adrenalin 投与時に於けるBIの過血糖抑制は比較的軽度であると云い得よう。即ち stress 症候としての過血糖が交感神経系を介して出現するに、それが主として副腎を介する時はBIの効果少く、副腎を介しない時は是によって顕著に抑制されるのである。

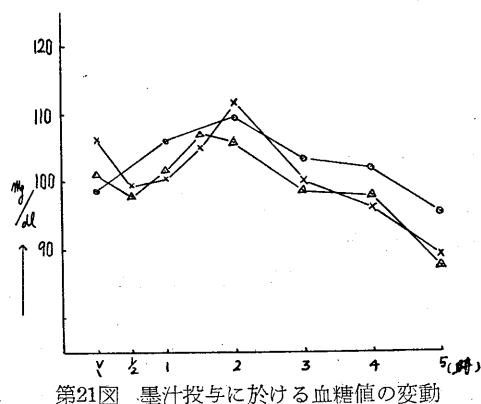
尚、注目すべきは輸血時の血糖増加及び凝固時間短縮が瀉血時のそれ等に比し緩徐に旧に復した点である。

特に輸血時の血糖増加機転が 8cc/kg なる容量の非経口的投与による物理的 stress によるものか或いは異物処理の誘発なる stress によるかが問題となるので、化学的に影響のないとされる墨汁投与によって次の実験を行った。

E. 墨汁投与実験

RES 填塞時と同様に作製した墨汁を輸血実験血量と同量 8cc/kg を同速度にて耳翼静脈より投与した(第21図)。この結果は輸血の場合程に血糖増加は発現せず、寧ろその低下を来した事からも是は輸血と同様な stress を生体に惹起せしめ得ないことが判る。斯様な観点から輸血時の過血糖は一定容量の非経口的投与なる物理的 stressor によるもの、云い換えれば非特異的な反応としての血糖増加ではあり得ないと考えられる。

又、前述の如く墨汁の連日投与(第2図)に



より低血糖及び凝固時間延長を招来するが、是は墨汁沈着によるその機能低下の為と考えられる。従ってRES填塞例に於いて輸血時過血糖が阻止せられる事も、此の輸血時の過血糖発現に対してRESが極めて緊要な役割を果していると了解される。

又、輸血の場合は輸入された血液処理の為に墨汁投与の場合と逆にRES機能興奮を撰択的に惹起し、赤血球を主として考える場合、肝をも含めた広義のRESの貪喰能を特異的に誘発し、其の他血清蛋白処理の為にRESの臓器興奮が期待されて、その時間的経過により緩徐下降曲線を呈したものと考える。

V. 考 察

所謂 stress 症候としての血糖増加及び血液凝固時間短縮の出現に関して、曾って、Cannonは副腎を介するものとして解したのであるが、著者の実験によってこの様な stress 症候出現に多少異った機序を介して来るものもあることが明らかとなった。

即ち、瀉血時の過血糖及び凝固能昂進は副腎を介して出現しPBにより抑制され、輸血時のそれは副腎剔出後も尙明らかに認められるものであり、これが発来は主としてRESの興奮に由来すると思つた次第である。

既に Wertheimer and Battery⁷⁾は副腎剔出猫の糖刺実験に於いて尙可成りの過血糖出現を見ており、Freund u. Marchand¹⁾も其の点を発表している。著者も亦是を視下刺家兎に於いて認め且つ、それがBIによって容易に抑制されることを知った。

恐らく是は交感帯よりの肝、RESへの直接刺戟と想像され、BIの抑制効果も恐らく肝交感神経作用抑制として解し得る。

なお、輸血時に見られる血糖値増加及び血液凝固時間短縮は上述の如く、交感神経の活動に由来することは先人の通りで、上述の考察の如く、肝、RESの刺戟効果として解されるがそのRES交感神経刺戟が血液中の異物によるRES刺戟効果とも考えられる。併し墨汁実験

に於いて墨汁の如き不活性なる異物投与によるRES刺戟に際して第21図に示した如く、特に初期に見られる血糖増加の程度が極めて軽度で、輸血に際して見られる過血糖をしては解し難く且つ、その血糖増加および血液凝固時間短縮が副腎剔出により抑制されるものであるが故に、当然交感神経興奮も惹起されるものと解される。

しかしながら興奮のあり方が副腎に於ける分泌を伴わない所の交感神経興奮によるものと思つ考する。

VI. 総 括

1) 瀉血並びに輸血は何れも血糖増加及び血液凝固時間短縮と云う stress 症候を呈する。

2) これ等の stress 症候に対する各種抑制剤効果を見るに瀉血時は Phenobarbital 投与が最も強く、これに対して輸血時は墨汁注入によるRES填塞及び Benzyl-imidezolin 投与が最も良く抑制する。

3) 従って同一 stress 症候としての過血糖並びに血液凝固時間短縮は発現条件により異なる。

4) 瀉血時の発来機序は中枢性に招来される副腎髓質活動によるに反し、輸血時のそれは概して、中枢及び副腎を関与せず直接RES興奮による結果と思つ考される。

5) 輸血時の肝、RESの刺戟作用は恐らく肝交感神経を介するものと考えられる。

欄筆に当り、久保教授の御鞭撻と、千葉大学医学部第2生理学教室福田教授の御助言及び御校閲、並びに伊藤助教授(現在東京歯科大学生理学教授)の御指導、御校閲に対し衷心より謝意を捧げ、且つ終始御援助を与えられた森下博士に感謝する次第である。

尙本論文要旨は(第95回1954.4)生理学東京談話会に於いて発表せざるものである。

文 献

- 1) Alexander Partos u. Franz Sveć (1928) Gesetzmässiger Zusammenhang Zwischen Blutzuckergehalt u. Blutgerinnungszeit. Arch. f. d. ges. Physiologie 218, 209 : (1928) 219, 418 : (1930) 244, 62 : (1930) 244, 448
- 2) Bürker, (1912) Vereinfacht Methode zur Bestimmu-

- ng der Blutgerinnungszeit. Arch. f. d. ges. Physiologie 149, 1318
- 3) Cannon, (1929) Bodily changes in Pain, Hunger, Fear and Rage. chapter V The increase of blood sugar in pain and great emotion 66-79
chapter IX The hastening of coagulation of blood by adhesion 132-156
chapter X The hastening of coagulation of blood in pain and great emotion 157-177
 - 4) Freund, u. Marchand (1914) Arch. exper. pathol. und pharmak. 76, 311
 - 5) Scudler, J. Drew (1941) Newer Knowledge of blood transfusions. New York Acad. of Medicine 17, 373-398
 - 6) Somogyi, M. (1945) Determination of Blood sugar. J. Biol. chem. 160, 74
 - 7) Wertheimer, and Batherz (1910) Arch. Internationales de physiol. 9, 110
 - 8) 神沢 修 (1931) 血液凝固と血液量との関係に就いて 台湾医学誌 31, 432
 - 9) 武 正一 (1926) 輸血並に瀉血による血液の変化 東京医会誌 40, 395
 - 10) 中西正雄 (1932) 輸血による血液諸成分の変化 愛知医会誌 39, 1521
 - 11) 黒津敏行 (1949) 自律中枢に就いて 脳研究 3, 39
清水信夫 (1948) 自律中枢の線維連絡 脳研究 2, 28
 - 12) 福田篤郎 (1953) On bilateral adrenalectomy in rabbits. Jap. J. Physiol. 2, 208

Summary

It is generally recognized that the hyperglycemia and the acceleration of the ability of blood coagulation are provoked by phlebotomy and transfusion and the author doubts if these phenomenon are provoked by the same mechanism in spite of the mutually, opposite stressors, namely, phlebotomy and transfusion.

The author investigated into the influence of phlebotomy and transfusion under several conditions, namely, I normal condition, II the injury of liver-function, III the stoppage of R. E. S.-function, IV the extraction of the spleen, V the administration of benzylimidazolin and VI the administration of phenobarbital and obtained the following results :

The degree of increase of blood sugar at the phlebotomy increases in the following order, I > II > III, V, IV > VI.

The degree of shortening of blood coagulation at the phlebotomy increases in the following order, I, II, V, III, IV, VI. and the order of both cases is almost the same.

And the degree of increase of blood sugar at the transfusion increases in the following order, I, VI, IV, II, III, V, the degree of shortening of blood coagulation increases in the following order, I, II, VI, IV, III, V and the order of both cases is almost the same.

But the author recognized the difference between the influence of both cases by comparative observation after the phlebotomy or the transfusion.

At the phlebotomy VI and IV are provoked as the remarkable inhibitory symptom at the stress but at the transfusion V and III showed the remarkable inhibitory phenomenon.

And then the author recognized that the increase of blood sugar and the shortening of blood coagulation as the symptoms of the stress of the same kind are due to different causes.

The symptoms of stress at the phlebotomy are provoked by the secretion of adrenalin from the supra-renal body as is mentioned in Cannon's theory and the administration of phenobarbital inhibits the central mechanism.

And the symptoms of stress at the transfusion are provoked by the mechanism that Cannon did not point out, and then R. E. S. excited directly by the transfusion and the administration of benzylimidazolin inhibits the function of sympathetic nervaliver.

(Department of Physiology, Central Laboratory of the Hospital in Tokyo Medical College)

細胞内酸可溶性燐分割の contaminatin について 612.014.1

On the Contamination of Acid Soluble-P Fraction in the Cell

(本論文の要旨は昭和27年10月26日第5回近畿生理学談話会で報告した)

山根彦二・田代裕 (YAMANE-Hikoji・TASHIRO-Yutaka)*

I. 緒 言

細胞内燐酸化合物は、溶媒に対する溶解度の差、その他に基いて酸溶性燐 (ASP) リポイド燐 (Lipoid-P), 核酸燐および蛋白燐 (NA-P, Protein P) 等に分けられている。

ASP は Trichlor acetic acid (TCA) に依り抽出される P で, Inorg. P 及び低分子有機燐酸化合物からなっている。後者は主として生体の種々の中間代謝, 従って energy 代謝に重要な意義をもち, P の turn-over を明らかにすることは, 筋攣縮, 神経興奮伝導機構を解明する上にも重要である¹⁾²⁾³⁾。

それに対し Lipoid P, NA-P, Protein P 等高分子物に結合した P は acid insoluble で之等高分子物は複合系 (笹川¹¹⁾は生活基本小体と名付けている) を作り細胞構成に関与すると同時に細胞の代謝にも直接関係している。

かかる P は何れも ester 結合で結合しているが, なお他に燐酸はそのイオン基或いは極性基で二次結合を作り, この結合が, 高分子の configuration その他の物理化学的性質を規定し, 筋攣縮や, 原形質流動にも関与していると考えられる²⁾⁴⁾。

高分子に吸着した P の量は, 生体高分子が大部分負に荷電しているために通常著明なものではないが⁵⁾, pH, dielectric constant 等の溶媒の性質を変えること⁵⁾, 或いはそれに伴う高分子の相変化によって著明になりうる⁶⁾。特に P³² を用いる turn-over studies に於いて, specific activity の高い inorg. P と低い P 化合物で共存する時には, 斯る吸着によって混入した inorg. P³² が他の分割の specific activity に大きく影

響する可能性がある。ASP に対するこの contamination については Ennor & Rosenberg⁷⁾ 等の研究があり, 高分子を TCA で不溶化せしめる際に起る P³² の contamination については Davidson 等⁸⁾ の研究がある。

著者等は肝細胞 homogenate から TCA で inorg. P を抽出する際, inorg. P³² が完全に除かれるか, 又高分子と inorg. P との間に結合が起るか, 或いは inorg. P の抽出を繰返すことにより高分子から dephosphorylation が起るかを吟味してみた。

II. 実験方法

A. In vivo で P³² を与えた場合 (実験 I)

P³² を注射した rat liver から TCA で inorg. P を抽出する場合。

90~100g 大の rat に per g 0.1 μ C の P³² を背部皮下に注射, 6時間後断頭し liver を剔出, 4倍量の 0.9% NaCl を加え, homogenizer にて homogenize し, 之に 1/2 量の 30% TCA を加え, 30分以上氷室に放置後遠沈, 沈渣に 10% TCA を加え, 再び分散せしめ遠沈後上清を分離する。之を反復し 20回以上に及ぶ。以上の操作は何れも 5°C 以下で行った。

B. In vitro で P³² を加えた場合 (実験 II)

rat liver を剔出, homogenize してから 30% TCA と同時或いは TCA を加える直前に inorg. P³² を 1g につき 0.3 μ C 加え 30分放置後 A. と同操作を行い, 酸溶性燐を分離した。

以上の抽出物 (A 及び B) に一定量の carrier および Magnesia mixture を加え inorg. P を Magnesia ammonium phosphate として沈澱せしめ, 30分以上放置後小孔を穿った cap 上に一定大の濾紙をひき濾過。この濾紙を object glass

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

の一定位置に貼布し Geiger-Müller counter で計数した。

Ⅲ. 実験結果及び考按

A. In vitro の実験

In vitro の実験で明らかになったことは、1. inorg. P³² は3回の抽出では完全に除かれず、平均0.4%が contamination として残った。2. 抽出を繰返すと5~6回で抽出量は急に減少するが、以後も尚抽出され、その量はn増大と共に減少する。3. 抽出20回にわたっても尚0とならず、20回抽出後の沈渣を灰化した所尚1.0~0.1%程度のP³²が残存した。

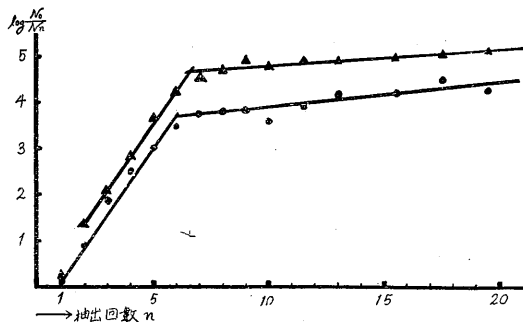
今遠沈上清のVol. V₁ sediment の溶媒のVol. V₂, n回目の上清の計数をN_nで示す。もしinorg. P³² と高分子物との間に相互作用がないとすると、Ostwaldの洗滌式に従い

$$N_n = N_0 \left(\frac{V_1}{V_1 + V_2} \right)^n$$

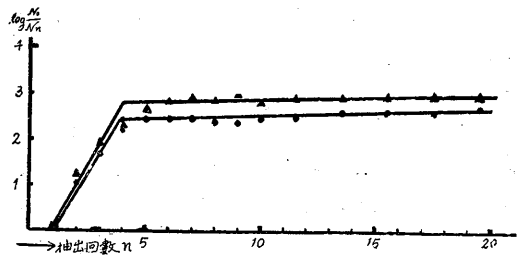
$$\log \frac{N_0}{N_n} = n \log \left(1 + \frac{V_2}{V_1} \right)$$

$\log N_0/N_n$ と n の間には直線関係が期待される。Fig. 1はこの予想が正しいことを示し、実験結果は2本の直線 a, b で与えられる。aの勾配から V_2/V_1 を計算すると7.6となり、実験値8とよく合致し $n=5$ or 6 までは大部分のP³² が洗滌式に従って除去される事を示している。然るにbの部分から V_2/V_1 を求めると0.1りとな実験値と全く合わない。このことは高分子と結合し従って単に partition によっては除かれぬ様なP³² が存在することを示している。

この様な inorg. P が何と結合しているかは、



第1図



第2図

次回に解析したが、それによると、20回洗滌した沈渣から抽出したLipoid fractionには殆んどcontaminationを認めぬ所から、多数の極性基特に塩基性イオン基を有する核酸や蛋白部分とinorg. P³² が結合したものと思われる⁹⁾¹⁰⁾。

B. In vivo の実験

In vivo の実験で明らかになったことは、1) 3回迄の抽出量の和と、20回迄の抽出量の和の比を比較すると、3回で96.8%が抽出され従って3.2%が抽出されずに残ったが、これはA. に比し可なり大きい。2) 更らに抽出を返繰すとN_nはconstantに近ずき、A. に見た様にN_nがnの増加とともに急速に減少することはなかった。前と同様の解析を行い、その結果をFig. 2に示す。

この実験で注目すべきことは、最初のhomogenateに存在するinorg. P³² はB.の方が少ないにも拘らずnを大にした時にB.の場合に毎回抽出されるinorg. P³² の量が多い点で、この場合P³² がincorporateされた高分子物が失われる可能性が先ず考えられるが、4000RPM 15分の遠沈で上清は全く透明であり且つMagnesium ammonium phosphateとしてinorg. Pのみを沈澱せしめている。従って我々は高分子にincorporateされたP³² がdephosphorylateされて出て来るのではないかと考えており、将来この検討を行いたいと思っている。

V. 結 論

肝細胞 homogenate から無機磷が抽出される過程に就いて研究し以下の如き結論を得た。

1. In vitro で homogenate に加えた inorg. P³² は数回の抽出では完全には抽出されずに残

る。この P^{32} は抽出曲線の解析から, inorg. P^{32} が高分子物に結合するものと考えられる。

2. In vivo で, 即ち P^{32} を注射した rat liver homogenate から inorg. P^{32} を抽出すると長期間にわたり少量づつ inorg. P^{32} が抽出されて来る。之は高分子磷酸化合物から P が dephosphorylate されて来ることによると思われる。

擧筆にあたり, 御指導御校閲をうけた笹川久吾教授に深謝す。

文 献

- 1) Mc Elroy, W. D & B. Glass, (1951) Phosphorus Metabolism
- 2) Szent-Györgyi, A. (1948) Nature of life, Acad. Press
- 3) Nachmannsohn, D. (1952) Modern Trend in Physiology & Biochemistry
- 4) Ling, G. N. (1952) Phosphorus Metabolism 2, 748
- 5) 笹川久吾・広田猛夫・東 怜・高浪 満 (1952) 日本生理誌 14, 476
- 6) 田代 裕; (生化学に投稿中)
- 7) Ennor, A. H. & H. Rosenberg (1952) Biochem. J. 50, 524
- 8) Davidson, J. N., S. C. Frazer, & W. C. Hutchison (1951) Biochem. J. 49, 311
- 9) 山根彦二・田代 裕 (1953) 日本生理誌 15, 168
- 10) 田代 裕・山根彦二 (1953) 日本生理誌 15, 168
- 11) Sasakawa, K. & T. Hosomi (1949) Acta Scholae Med. Univ. Kyoto, Jap. 96

Summary

The procedure of the extraction of inorganic P^{32} from rat liver homogenate was studied. Inorganic P^{32} added to the homogenate in vitro was not completely extracted by the repeated washing with trichloroacetic acid, and analysis of extraction curve led us to conclude that there should be binding of inorganic P^{32} with macromolecules. From the liver of rat previously received P^{32} , more P^{32} was obtained in every extraction, and the possibility of the dephosphorylation of P^{32} from macromolecular phosphate compounds was suggested.

(Dept. of Physiol., School of Med. Kyoto University)

細胞内リポイドの抽出及びリポイド燐の turn over と

contaminatin に関する研究 612.014.1

Studies on the Extraction of Cellular Lipids and on the Turn over and the Contamination of Phospholipids-P.

(本論文の要旨は昭和27年10月26日第5回近畿生理学談話会で報告した)

田代 裕・山根 彦二 (TASHIRO-Yutaka・YAMANE-Hikoji)*

Phospholipid の P の turn over に就いては Hevesy 以来, 多数の研究がなされており¹⁾²⁾, 種々薬物の影響なども吟味せられている. しかし乍ら, 他的高分子とどの様な様式で結合し, また他の代謝系殊に Choline や Ethanolamine と云った生理機能と関係が深い物質の代謝と, どの様な相互関係をもっているのか等については, 不明の点が多い. ここでは P の turn over, contamination の吟味を行う前に先ず有機溶剤による Lipoid 抽出の問題をとりあげ, 細胞内に於ける Lipoid の存在形態について簡単な考察を試みたい.

I. 肝細胞殊に mitochondria 内の Lipoid の存在形態とその抽出

phospholipoid は試験管内で温 Alcohol, Ether Benzen, Chloroform, 石油 Ether 等の有機溶媒に溶けることが知られている. ところが肝細胞内に於いて, lipid は単独に存在すること少なく, 主として mitochondria (15~20%) microsom (40~50%) 等の顆粒中に存在し, 蛋白や核酸と Liponucleoprotein を形成していると云われる³⁾⁴⁾. 従って上記のような Lipoid 溶媒に対し試験管内では異った態度を示すことが期待され, このような解析が顆粒内の Lipoid の存在状態の解明にも役立つと思われるので次の実験を行った.

A. 実験方法

100~120g大の rat の肝を使用. 実験前12時間以上断食した rat より liver-homogenate を作り, これに等量の30%トリクロール醋酸を加え酸溶性燐を十分除去したものを試料とし

た. mitochondria から抽出する際には Mirsky-Pollister 法に従い, Large granule fraction を分離し同様の操作を加えたものを試料とした. いずれの場合も酸溶性燐を除いてから, 沈渣を desicator 内で十分乾燥し, これを等分し, 20ml づつ各種溶媒を加え10分間連続抽出し, その extract の一部を湿式灰化後, Allen 法で無機燐を比色定量した⁵⁾.

B. 実験結果及び考按

Liver homogenate 及び Large granule fraction より抽出量を, Ether の場合を1として示すと第1表の通りになる. いずれの場合にも Alcohol-Ether (3:1) の抽出量が最も多く, 次いで Chloroform, Ether, 石油 Ether の順となっている (第1表).

上の結果から non polar な Solvent 程抽出量は少い事がわかる. 元来 Lipoid はその hydrophobe な性格のために単独で存在するよりも Van der Waals 力で carbon chain を保護した形で存在するものと思われる. そして血清 Lipoprotein の場合には Lipoid の hydrophobe group が蛋白の hydrophobe group と結合するか⁶⁾, 或いは Lipoid 同志が carbon chain で結合して micelle を作り, micelle の形で蛋白と結合して

第1表

	Ether	Alcohol-Ether (3:1)	Chloroform	石油 Ether
boiling point (°C)	37		61.2	40~43
dipole moment (Debye)	1.15		1.05	0
dielectric constant	4.33		5.05	
水100gに対するsolubility (g)	7.51		0.82	0.003
抽出比				
rat liver homogenate	1.0	4.0		
rat liver mitochondria	1.0	4.8	2.3	0.89

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

いる (Macheboeuf)⁷⁾ と云われている。従って斯る複合体から Lipoid を抽出するには, Lipoid-Protein 間乃至 Lipoid-Lipoid 間の結合を切らねばならず, 従って単に Lipoid を溶すだけでなく, 或る程度氷に affinity をもったもので結合水の間に入りうるものでなければならない。上の実験は斯る事実が mitochondria などの顆粒体の Lipoid についてもあてはまることを証明している。

但し上の実験で 1) 抽出を各溶媒の沸点で行ったため, 抽出の際の温度が異り, 温度効果も一緒に入っている可能性がある。Chloroform と Ether を比較すると, dipolemoment や水に対する solubility は共に Ether より小さいにも拘らず, Chloroform の抽出力が大きくなっているのは上の温度効果によるのでないかと思われる。2) また上の成績は 1 回の抽出量のみを示し抽出力そのものを示していないので, 経時的に抽出量の増加を観察して解析してみたい。3) Lipoid の定量には P の定量を用いたので, トリクロールにより最初酸溶性磷を除いたが, このために蛋白部分に不可逆的な変性を起し Lipoid Protein 間の結合様式もかなり変化している可能性がある。従って将来, 生の試料から一定温度で抽出を行い, 経時的に抽出量を測定し, P 以外の定量法を用いて, 結果をたしかめてみたいと思っている。

II. Lipoid 磷の Turn over 及び P³² の contamination の問題

Schmidt-Thaunhausen 法⁸⁾ で Lipoid を抽出

し, 肝細胞 Phospholipid の turn over を調べ, その際どの程度の contamination が Lipoid fraction に認められるか, 又どの様な mechanism で斯る contamination が起るか, この contaminated P³² はどの様にすれば除かれるか, 等をここで研究した。

A. 実験方法

全べて 1.2kg 程度の家兎を, 実験前 12 時間絶食して用いた。即ち I. に於いて記載したと同様の方法で肝 homogenate より酸溶性磷を除去後, 沈渣を desiccator 内で乾燥, 粉碎後 alcohol-Ether (3:1) 20ml を加え 10 分間抽出後, 更に Ether で 2 回, 10 分間抽出, 両者を合せて Lipoid 分割とし, その P 量と放射能を測定した。P³² は殺す 6 時間前に家兎の背部皮下に注射し, また試験管内で加える場合には, homogenate に inorganic P³² を混合し, contamination の実験に供した。

Lipoid 分割に対する contamination の除去。この目的に Paper-chromatography を用いることも出来るが⁹⁾, 試料を再抽出して, Specific Activity (SA と略記) を測定する事が困難であるので, Hahn 等の方法に従って専ら partition により inorg.-P³² を除去した¹⁰⁾。即ち in vitro 及び in vivo で P³² を加えた肝 homogenate より抽出した lipid 抽出液に n/10 HCl を加え, 混合振盪後 SA の低下をしらべた。ただしかかる contamination 除去法が許される条件として i) この方法を行っても, 各種 phospholipid の割合が不変であるか, ii) 各種 phospholipid の

第 2 表

No. of Exp.	Fraction	In vivo で P ³² を与える			In vitro で P ³² を加える		
		P 定量 mg/100g		SA cts/min/0.1mg P × 10 ²	count/min		加えた全 P ³² に対する %
		Wet tissue	× 10 ³		P 定量	× 10 ³	
Exp. 1	A ₁ S-P	43.6	7549	173	88.9	5058	
	P ₁ -P	26.8	3473	130	14.8	4819	
	Lipoid-P	26.6	760	28.6	57.3	239	2.7%
Exp. 2	A ₁ S-P	104.1	3560	45.4	110.9	39130	
	P ₁ -P	55.6	2306	41.5	70.6	37001	
	Lipoid-P	49.2	643	13.6	101.7	28.0	0.71%
Exp. 3	A ₁ S-P	81.5	5667	69.5			
	P ₁ -P	26.6	3203	121			
	Lipoid-P	78.5	359	4.6			

但し A₁ S-P : acid soluble P.

P₁-P : inorganic P.

第3表

Fraction	a. In vitro で P^{32} を加えた時			b. In vivo で P^{32} 注射			c. トリクロール 2 回抽出後		
	P 定量	cts/min	SA	P 定量	cts/min	SA	P 定量	cts/min	SA
P_1	0.649mg	233		1.083	56,889			42,211	
Lipoid-P	1.17	176	15	3.379	38,870	1,002	1.575	22,035	1404
n/10HCl 洗滌 後の Lipoid-P	0.862	72	84	0.098	905	921	0.038	531	1394

turn over の速さが等しくなければならない。i) については何の保障もなく、むしろ acidic にすると lecithine が特異的に失われる可能性が考えられるが、Hahn²⁾ 等により ii) の条件がほぼ成立することが肝細胞については見られているので本法を用いた。又本法では洗滌操作により Lipid の損失が大きい点も再考を要する。

B. 実験結果及び考察

1. P^{32} 注射後 6 時間目の Lipoid-P の turn over

第 2 表に実験結果を示す。実験例によりかなり動揺があるが、注射後 6 時間目では Lipoid-P は inorganic-P の 1/3~1/30 程度の SA を示している。

2. In vitro で P^{32} を与えた場合

第 2 表からこの場合加えた inorg. P^{32} の数% 以下しか Lipid 分割に入らぬ事がわかった。従って P_1 分割の SA が低い時には Lipoid 分割への contamination は殆んど問題にならぬと考えられる。但し注射後分析までの時間が短い時には P_1 の SA が高く Lipoid の SA は低いから、contamination は大きくなる。

3. Contamination 除去 (第 3 表参照)

a) In vitro で P^{32} を加えた場合

家兎の肝 homogenate に in vitro で P^{32} を加え A_1S を抽出除去。Lipoid を前記と同様の方法で抽出し、溶媒を飛ばしてから、Ether にし n/10 NCl と振盪し、contaminated P^{32} を除いた。

この場合、SA の低下を認めるが、完全に除去される迄には至っていない。

b) In vitro で P^{32} を注射した場合

P^{32} を注射した rat を 4 時間目に殺し、トリクロールで 3 回 A_1S を除き、それより得た Lipid の Ether 溶液を作り、上と同様に n/10 HCl で contaminated P^{32} を除いてみた。

第 2 表の通り、洗滌後明らかに SA の低下を認めた (約 9%)。

c) 次に b) と同じであるが、トリクロールによる抽出を 20 回にわたって行ったものに就いて洗滌による SA の低下を調べた所表の通りで、SA の低下は殆んど認められないから、Lipoid 分割に contaminate した P^{32} は確かに inorg. P に由来するものと思われる。

つぎに Lipoid への斯る contamination は inorganic P と Lipoid とが結合したことによるものか、それとも単に有機溶媒に分配せられたものと云うことが問題になる。元来肝の Phospholipid は Lecithine や Cephaline が大部分を占めているが、何れも長い脂肪酸の Carbon chain を有し、inorganic P がこの Carbon chain と結合するとは考えにくい。また polar group にしても、Cephaline は負に荷電して居り、Lecithine は NH_3^+ を有するが、分子内 Salt bridge を作り、多量の inorganic P を結合するとは思えない。現在の所、我々は抽出溶媒に inorganic P^{32} が分配される事が、contamination の原因であろうと考えているがこの問題は将来再検討を加える予定である。

II. 総 結 論

1. rat liver homogenate 及び mitochondria より種々の溶媒の Lipoid 抽出量を比較し次の結果を得た。即ち 10 分間の抽出量比は Alcohol-Ether (3:1) > Chloroform > Ether > 石油 Ether の順となり、ある程度の極性と水に対する溶解性を有するもの程、抽出量の多い事を知った。これは Chargaff, Moecheboeuf の考えたように、組織 Lipoid が Van der Waals 力で micelle を作り、直接或いは一定の結合水を介して蛋白乃至 Nucleoprotein と結合し、複合蛋白の形で

存在するためと考えられる。

2. Lipoid に対する contamination は homogenate 中の acid soluble P 特に, inorganic P の混入によるものと思われ, その mechanism として, Lipoid に対する結合によりむしろ溶媒への inorg. P の分配を考えたい。

従って acid soluble P の Specific Activity の高い時には Contamination の占める比重は大となるが, 低い時には数%で余り問題にならない。

3. この contaminate した P^{32} は $n/10HCl$ と振盪することにより, かなり良く除去される。

欄筆に当り, 御指導並に御校閲の労を給つた恩師笹

川久吾教授に深謝す。

文 献

- 1) Hevesy, G. (1948) Radioactive Indicators : Interscience Publ. N. Y.
- 2) Hahn, L. and H. Jyien, (1946) Ark. Kemi mineral. Geol. **A21**, 11
- 3) Schneider, W. C. (1951) Cancer Res. **11**, 1
- 4) Claude, A. (1949) Adv. in Protein chem. **5**, 423
- 5) Allen, R. J. L. (1940) Biochem. J. **34**, 858
- 6) Chergaff, E. (1943) Adv. in Protein chem. **1**, 1
- 7) Macheboeuf, M. (1950) Disc. Farad. Soc. **6**, 74
- 8) Schmidt, and Thsnnhauser, (1945) J. Biol. chem. **161**, 83
- 9) 笹川久吾・広田猛夫・東 怜・高浪 満 (1952) 日本生理誌 **14**, 476

Summary

1. The amount of lipids extracted for 10 minutes from rat liver homogenate and rat liver mitochondria with various solvents was compared and the following series of extraction were obtained. Alcohol-Ether (3 : 1) > chloroform > ether > petroleum ether. It is clear that the solvents hith considerable degrees of polarity and of solubility to water could extract more lipids. This might be due to the direct or indirect combination (intermediated by bound water) of the associated micellar lipids lipids with proteins or nucleoprotein, as was supposed by Ohargaff and by Macheboeuf in the case of serum lipoproteins.

2. The contamination of the inorg. P^{32} to the lipids fraction would not due to the binding of inorg. P^{32} to the lipids, but mainly due to the partition of P^{32} to the lipids solvents. Accordingly the amount of P^{32} contaminated to the lipids fraction was so much to neglect when the specific activity of the acid soluble P was high, however it was low, the contamination is negligible.

3. This contaminated P^{32} was eliminated considerably well by the shaking with $N/10 HCl$.

(Dept. Physiol., School of Med. IKyoto University)

細胞内核酸及び燐蛋白燐の turn-over 及び inorg. P³²

の contamination について 612.014.1

Studies on the Turn-over of Nucleic Acid and Phosphoprotein-P and on the Contamination of the Inorg P³² with them.

(本論文の要旨は昭和27年10月26日第5回近畿生理学談話会で報告した)

田代 裕・山根 彦二 (TASHIRO-Yutaka・YAMANE-Hikoji)*

I. 緒 言

細胞内で核酸は蛋白、リポイド等の高分子物と結合して高分子複合系—笹川はこのような複合体に細胞と高分子の間に存在する subunit と云う意味で生活基本小体と名付けている—を作り、蛋白合成や遺伝現象に重要な役割をはたしていると推定されている。従って細胞学的立場からは、核酸がどのような物質と、どのような力で結合しているかと云うことと、他の代謝系とどのような関連性をもち、従って蛋白合成や遺伝現象と具体的に、どのように関連しているかを解明することが重要な問題である。P³² による研究は主として、後者の問題の解明に役立つもので Hevesy 以来多数の実験が行われて来た¹⁾。燐核酸の turn over を研究する方法として、従来種々の分析法が考え出されて来たが^{2,3,4,5)}、此れ等種々の方法で得られた値と比較検討してみると data の動揺に気付く。例えば Davidson が同一の試料を Schmidt-Thannhauser 法⁵⁾ (S-T 法) と核酸単離法 (D法) で分析した結果を比較すると⁶⁾、前者では DNA に就いて 3.9 倍、RNA に就いては 4.3 倍も大きい値が得られている。このような動揺と云うものは、covalent bond で結合した P³² と、高分子に吸着した P³² を分別しえないために起るものと思われ、核酸や蛋白の P の turn over の研究にあたっては斯る contamination の吟味の重要性が 2, 3 の人々によって指摘されて来ている^{7,8,9,10)}。著者等は高分子の試験管内に於ける挙動に注意しつつ、次の様な実験を行った。

1. S-T 法で分析した時、contamination はどのような分割にどの程度見られるか。

2. D法が Davidson の云う様に contamination のない方法であるかどうか。

3. rabbit liver homogenate を Mirsky Pollister 法¹¹⁾ で分割し、各分割の核酸を S-T 法で分析してみた。この方法は種々の見地から、contamination の少ない方法であると考えられるからである。

4. 最後に Phosphoprotein に対する吟味を行った。

II. 実 験

1.2~1.5kg 大の家兎の肝を使用。型の如く肝 homogenate を作り、之を S-T 法、D法及び Mirsky Pollister 法により分割してから S-T 法で分析して行く方法 (此を M-P 法) を用いた。P³² は in vitro で加える場合には homogenate に、in vivo で加える場合には殺す 6 時間前に耳静脈に per kg 100 μ c 注射した。得られた各分割は過塩素酸で灰化後、Allen 法で P を定量し¹²⁾、又 Geiger-Müller counter で P³² を測定した。

III. 実 験

A. In vitro で P³² を加えた場合

1. S-T 法。Trichloroacetic acid (TCA) 3 回の抽出ではかなり加えた P³² が残存し、主として燐蛋白分割に入ってくるが (3~4%) RNA, DNA 分割にも相当量入ってくる。

2. D法。Davidson は核酸を単離すればよいと考えているが、明らかに相当量の contamination が認められた。

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

No. of Exp.	Method of Exp.	Nucleic acid	P 定量 mg-p/100g wet tissue	No. of cts/min	Specific Activity	RNA-P ³² /DNA-P ³²
No. 1	Schruidt-Thannhauser's method	RNA	11.43	446,000	3,904	21.1
		DNA	10.70	19,800	185	
	Davidson's method (isolation of nucleic acid)	RNA	0.15	2,248	1,519	8.3
		DNA	0.29	508	176	
	Mirsky-Pollisteis method で 得た核分割を Schmidt-Thann- hauseis method で分析	RNA	0.02	622	3,362	35.0
		DNA	0.12	96	79	
No. 2	Schruidt-Thannhauser's method	RNA	46.4	458,000	991	6.6
		DNA	10.7	16,168	151	
	Davidson's method (isolation of nucleic acid)	RNA	0.28	1,238	442	5.1
		DNA	0.12	106	87	
	Mirsky-Pollisteis method で 得た核分割を Schmidt-Thann- hauseis method で分析	RNA	0.73	5,098	694	10.8
		DNA	0.34	248	64	

3. M-P 法. contamination は殆んどない。之は citrate と云う極性溶媒によって細胞分割を洗う事が有効であったものと思われ、洗ってから P³² を加えると contamination を認めた。

B. In vivo で注射した場合 (表参照)

1. S-T 法. この場合の RNA と DNA の turn over の比は平均10.4倍であり phosphoprotein-P と RNA-P のそれは平均1.4倍であった。

2. D 法. RNA-P³²/DNA-P³² は平均 6.7 で S-T 法よりも低い。これは Specific Activity (SA) の高い Nucleolus の RNA が除外されていることに由来するものと思われる。今 S-T 法と D 法で得た核酸の SA を比較すると、DNA 平均1.34倍、RNA 2 倍となっている。このことから D 法で得た核酸に contamination がないとすると、DNA に就いては30~40%、RNA に就いては100% 程度の contamination があることになる。

3. M-P 法. 所でさらに M-P 法で分析して DNA の SA を求めてみると、何れの場合にも、前2 者よりも低い値が得られた。即ち M-P 法による DNA の SA を1 とすると、ST 法2、D 法1.6 となった。

IV. 考 察

所謂 contamination を低分子 P³² と高分子物との covalentbond 以外による吸着結合と考えるなら⁶⁾¹⁰⁾¹³⁾、その結合量は電解質溶液論の理論式に入ってくる ionic strength, temp, dielectric

constant (DK) やそれに pH の函数であることが予想される。所で核酸や蛋白の分割はこの様な溶媒条件を変化させることによって行われているのであって、斯る操作に伴って P³² との結合が増強される可能性が十分に存在する。此の様な考えが正しいかどうかの吟味又その定量的取扱は今後に譲るとして、定性的に種々の分析法を眺めてみる。

1. S-T 法では TCA を加えて、溶媒を酸性化したり、また蛋白を変性していることや、Alcohol, Ether などで DK を下げて Lipoid を除去する操作が、contamination を増強するものと思われ、in vivo で P³² を加えた実験で phosphoprotein の 50~70% RNA の 5~10% DNA の 15~30% は P³² の contamination によるものと思われる。

2. 著者等は D 法でも、SA の高い無機 P³² を含んだ homogenate に acetone を加えて DK を下げていることや、又洗滌に Alcohol, Ether 等を用いていることから、contamination を避けることは出来まいと予想していたが、事実本例では DNA に就いて 5~10% RNA 5~6% の P³² の contamination が認められた。

3. 著者等が MP 法を用いたのは、Dounce 等の破究で citrate を用いると高分子物の leakage が少い¹⁴⁾ ことの他に、極性溶媒で洗っていること、citrate が核酸の低分子化を防ぐこと、また Zbarbkii によると citrate が核の表面に変性を起させ、その等電点が pH5~6 にあること等¹⁵⁾ か

ら contamination が少いと予想したからであって、事実この方法では P³² の contamination が殆んどなく、且つ他の何れの方法よりも SA の低い DNA が得られることが明らかとなった。

4. phosphoprotein-P. この分割は Brues 等¹⁶⁾によって記載されて以来 P の turn over の早い Fraction である事が知られており⁸⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、我々も之を確めた。然し乍ら、In vitro で P³² を加えると可なり多量の P³² がこの Fraction に混入する事がわかり、少くとも phosphoprotein の 50% 以上が contaminated P³² に依るものでないかと思われ、TCA による抽出を繰返すと、SA が低下する事は、その可能性を物語っている。

以上の実験で試験管内に於ける phosphorylation, dephosphorylation の可能性を無視することが出来ぬが、これに就いては将来、吟味を行いたい。

尙実験的な立場からは如何にして contamination free の分割を得るかが問題であり、その吟味を行う予定であったが、実験後 Davidson¹⁹⁾ が Paper ionophoresis を用いて、良好な結果を得たことを知ったので附記しておく。

V. 結 論

rabbit liver の核酸及び磷蛋白の P の turn over 及び種々の分析法を比較する事によって contamination の解析を行い、次の様な結果を得た。

1. Schmidt-Thannhauser 法でも、核酸単離法でも DNA と RNA の P の turn over の間には大きい差が認められた。(前者 1:10.4, 後者 1:6.7)。

2. S-T 法では inorg. P³² の contamination が

ひどい。これは、phosphoprotein, DNA, RNA の何れにも認められる。

3. Davidson の云う核酸単離法を用いても contamination はのこる。

4. phosphoprotein と称せられる分割中の P³² の中には contamination に依るものが相当多い。

欄筆にあたり、恩師笹川久吾教授の御指導御校閲を深謝する。

文 献

- 1) Hevesy, G. (1948) Radioactive Indicators. Intersci. Publ.
- 2) Hammersten, E. and G. Hevesy (1946) Acta Physiol. Scand. 11, 335
- 3) Euler, and Hahn (1948) Arch. Biochem. 17, 285
- 4) Schneider, W. C. (1945) J. biol. Chem. 161, 293
- 5) Schmidt and Thannhauser (1945) J. biol. chem. 161, 83
- 6) Davidson, J. N., S. C. Frazer, and W. C. Hutchison (1951) J. biol. Chem. 49, 311
- 7) Jeener, R. and D. Szafarz (1950) Arch. Biochem. 26, 54
- 8) Friedkin, M. and A. L. Lebninger (1949) 177, 775
- 9) McCarter, J. A. and E. L. Steljes (1948) Canad. J. med Sci. 26, 333
- 10) 笹川久吾・広田 猛・東 怜・高浪 満 (1952) 日本生理誌 14, 476
- 11) Mirsky, A. E. and A. W. Pollister (1946) J. gen. Physiol. 30, 117
- 12) Allen, R. J. L. (1940) Biochem. J. 34, 858
- 13) 山根彦二・田代 裕 (1953) 日本生理誌 15, 163
- 14) Dounce, A. L. (1943) J. biol. Chem. 151, 221
- 15) Zbarskii, I. B. and S. S. Debov (1948) 江上篇 核酸及び核蛋白質 下巻 P. 4, P 82 より
- 16) Brues, A. M., M. M. Jracy, and W. E. Cohn (1944) J. biol. Chem. 155, 619
- 17) Spiegelman, S. and M. D. Kamen (1947) Cold spring Harb. Sym. Quant. Biol. 12, 211
- 18) Juni, E., M. D. Kamen, S. Spiegelman, and J. M. Wirme (1947) Nature. 160, 717
- 19) Davidson, J. N., & R. M. S. Smellie (1952) Biochem. J. 52, 594, 599

Summary

Studying on the turnover of nucleic acid and phosphoprotein and comparing the degrees of the contamination of inorganic P³² accompanied by various methods, following results were obtained.

1. It was ascertained that there was remarkable difference between renewal rate of DNA and RNA obtained either by Schmidt-Thannhauser's method or by Davidson's method of the isolation of nucleic acids.

2. Severe contamination was acknowledged in very fractions, obtained by Schmidt-Thannhauser's method, i. e. in phosphoprotein, DNA and RNA fractions.

3. The nucleic acid isolated by Davidson's method could not be free from the contamination of inorg. P³².

(Dept. Physiol., School of Med. Kyoto University)

肝細胞内の核酸分布と核酸磷の Rate of Renewal 612.014:1

On the Distribution of Nucleic Acids and on the Renewal rate of Nucleic Acid-P in Liver Cell.

(本論文の要旨は昭和27年10月26日第5回近畿生理学談話会で報告した)

山根彦二・田代裕 (YAMANE-Hikoji・TASHIRO-Yutaka)*

I. 緒 言

細胞内で DNA は核のみに存在し, RNA は nucleolus, cytoplasm に存在する. cytoplasm に存在する RNA は主として mitochondria, microsome 等の顆粒成分に存在し, リポイド蛋白等と complex system を作っている¹⁾. 笹川は斯る系が biological な subunit をなすと考え, これに生活基本小体と名付けている²⁾.

従来核酸磷の turn over の研究は主として細胞全体の homogenate について分析が行われているが, 細胞の種々の fraction の機能を知るには夫々の fraction の turn over の早さを知る必要がある.

このような目的で cell fractionation を用いた 2~3 の実験があるが³⁾⁴⁾⁵⁾, Jeener⁶⁾等の研究の外は contamination に対する考慮も少く, data は信頼性に乏しい. 我々は前に Mirsky-Pollister 法⁷⁾で細胞を分劃して核酸を分析すると contamination が少いことを述べたが⁸⁾, 今回はこの方法を用いて各 fraction について DNA, RNA, phosphoprotein 等の turnover の比較を行った.

II. 実験方法

家兎(約1kg)にP³²をkg当り100 μ c耳静脈に注射し, 6時間目に断頭後開腹, 肝を十分温 Ringer's solution で灌流後剔出し氷冷する. 之を Mirsky-Pollister 法で nuclear fraction (NF) と large granule fraction (LGF) に分けた. 今回は超遠心器がないので microsomal fraction については実験が行えなかった.

A. Mirsky-Pollister 法

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

肝の一部をとり pH 6.0, 1% citrate を medium とし氷冷しつつ homogenize し, homogenate を gauze で filtrate しその濾液を遠沈 (400g 10分), 沈渣に 0.2% citrate を加え 2 回洗滌する. 得た沈渣が NF である. NF を除いた上清を遠沈し (2500g 30分) 沈渣を更に 1% citrate pH 6.0 で 2 回洗滌する斯して得た沈渣が LGF である. この操作中位相差顕微鏡で絶えず観察し又操作は低温で行った.

B. Schmidt-Thannhauser 法⁹⁾

型の如く, Schmidt-Thannhauser 法に従い分析し, 各 fraction は Perchloric acid で湿式に灰化した. 得た試料の一部は Allen 法¹⁰⁾により呈色せしめ, electrophotometer により比色定量を行う.

一部は計数試料とする. 即ち先ず carrier を一定量加え, orthophosphate を magnesium ammonium phosphate として沈殿せしめる. その後吸収濾過を行い, 沈渣を Geiger-Müller counter で一定条件下で計数する.

千代田 90BM $\times$ 10 で観察, 500watt 高圧水銀燈を光源として用いた.

III. 実験結果及び考按

A. 位相差顕微鏡所見

この medium で分離した核は 4~5 μ 大, homogeneous にみえ特別の顆粒構造など認めぬ. 核膜は比較的明瞭に認められる. fractionation を行い, nucleus をおとすとお互に融着し, かなりの変形を認め又肝細胞や mitochondria の混入も認められた. それに対し LGF には他の fraction の混入は少いが, 相当凝集が著明である.

第1表

実験1 \	S. A (cts/min/0.1mg P.)	RNA-P/DNA-P
Nuclear-Fraction	DNA-P 79	35.0
	RNA-P 3362	
	Phosphoprot. 590	
Large Granular Fraction	RNA-P 2787	
	Phosphoprot. 690	
実験2 \		
Nuclear-Fraction	DNA-P 64	10.8
	RNA-P 694	
	Phosphoprot. 834	
Large Granular Fraction	RNA-P 325	
	Phosphoprot. 389	

B. Nuclear fraction の DNA-P と RNA-P の Turn over の比較

Specific activity の差は平均 23 倍で両者の間にはかなりの差が認められる (表参照)。

従来 RNA-P³²/DNA-P³² の値は 3~5 程度とされているが、それは細胞全体としての値であって、nucleus のみについてさらに大きいことがこの方法で確められ、この事実は Jeener⁶⁾ の結果とも一致する。そしてこの値は DNA は mitosis の際にのみ metabolism の cycle に入り、Nucleolus は細胞の蛋白合成に関与していると言う仮説には都合のよい data である。

C. Nuclear fraction と large granule fraction の RNA-P の Turn over

Nucleolus と mitochondria の RNA-P の Specific activity の比は表から計算すると平均 1.3 となり、Nucleolus の方が大で、Nucleolus でもっとも蛋白合成が旺んであると云う考を支持している。

D. Phosphoprotein

Phosphoprotein の turn over rate は一般に RNA よりも高いことになっているが¹¹⁾¹²⁾¹³⁾、本実験では、data の変動が大で、その SA は RNA よりむしろ低く出ている場合が多かった。これは phosphoprotein fraction の SA の 50% 以上が contamination であろうと云う著者等の実験結果を考慮に入れると理解出る⁸⁾。即ち Washing による contamination の除去の程度によってこの様な data の動揺を生じたのであ

ろう。尙最近核を isolate する際に蛋白部分が可なり失われると云う報告があるので単に phosphoprotein のみならず、他の fraction の contamination を考える場合にも十分考慮を要する。

IV. 結 論

Cell fractionation に依って Nuclear fraction と large granule fraction とを分離し、各 fraction の DNA-P 及び RNA-P の turn over の比較を行い、以下の如き結論を得た。

1) 先に報告した様に、Mirsky-Pollister 法を用いると contamination の少い DNA, RNA が得られるので本法を用い Nucleus の DNA, RNA の turn over を比較した。それによると両者の比は 1 : 23 で両者の間に著しい差が認められる。この事実は Nucleolus の RNA が蛋白合成に関与していると云う仮説には都合がよい事実と思われる。

2) 同様に Nucleus の RNA と mitochondria の RNA の specific activity の比較を行ったが、前者の方が大で Jeener の結果と一致する。この事実からも、蛋白合成は mitochondria より Nucleolus に活潑でないと思われる。

執筆にあたり、御指導御校閲をうけた恩師笹川久吾教授に深謝する。

文 献

- 1) Schneider, W. C. (1951) *Cauc. Res.* 11, 1
- 2) Sasakawa, K. & T. Hosomi (1949) *Acta scholae medicinalis univ. Kyoto, Jap.* 96
- 3) Barnum, C. P. & R. A. Huseby (1949) *Fed. Proc.* 8, 182
- 4) Barnum, C. P. & R. A. Huseby (1950) *Arch. Biochem.* 29, 7
- 5) Marshak, A. (1948) *J. Cell. Comp. Physiol.* 32, 381
- 6) Jeener, R. & D., Szafarz (1950) *Arch. Biochem.* 26, 54
- 7) Mirsky, A. E. & A. W. Pollister (1946) *J. Gen. Physiol.* 30, 117
- 8) 田代 裕・山根彦二 (1953) *日本生理誌* 15, 168
- 9) Schmidt, G. & S. J. Thann hauser (1945) *J. Biol. Chem.* 161, 83
- 10) Allen, R. J. L. (1940) *Biochem. J.* 34, 858

- 11) Brues, A. M., M. M. Tracy, & W. E. Cohn (1944) J. Biol. Chem. 194, 445
J. Biol. Chem. 155, 619
12) Brown, K. D., G. Jacobs, & M. Laskowski (1952)
13) Dounce, A. L. (1943) J. Biol. Chem. 147, 685

Summary

Renewal rates of nucleic acid-P and phosphoprotein P in nuclear and large granule fraction were studied. By the Mirsky-Pollister's method, DNA scarcely contaminated with P^{32} was extracted from nuclear fraction and renewal rate of RNA/DNA was about 20. Turn-over rate of RNA in nucleus was greater than that of mitochondria.

(*Dept. Physiol., School of Med. Kyoto University*)

犬 副 腎 不 全 症 の 発 現 機 序 に つ い て 612.455

On Adrenal Insufficiency in Dogs.

永 持 和 一 (NAGAMUCHI-Toshikazu)*

I. 序 言

副腎不全症の発生機序に関しては、Loeb等¹⁾及び Harrop 等²⁾以来、腎よりの食塩喪失による脱水がその主体をなすと考えられ、血清ナトリウム濃度の低下及びカリウム濃度の上昇が特異な副腎不全所見とみなされている。これは現在、食塩喪失説として定説の如き観を呈しているが、Swingle 等³⁾は本説登場の当初よりこれに反対し、毛細血管透過性亢進による血液濃縮が副腎不全時の循環障害を招来するものとした。尙、Swingle 等⁴⁾は最近に至ってもこの考えを捨てず、電解質代謝に影響少い Cortisone の最少維持量投与における生存において、低ナトリウム及び高カリウム血の存在においても動物はなお相当期間健全なる生活を営み副腎不全症を呈しないと述べている。人工合成ステロイドである DCA が著明な電解質代謝作用を呈することは衆知のことであるが、その生理的意義は否定され、最近に至り電解質ステロイドとしての Aldosterone の存在が指摘されるに至ったが⁵⁾、その分泌に関しては未だ充分明かでない。尙、副腎不全症に関する血清電解質異常は必ずしもすべての動物に見られず、Silvette 等⁶⁾のフクロネズミ、あるいは当教室実験の家兎においては⁷⁾、何れもこれを見ず、犬及び人においては著明に観察される。

副腎不全症に関する電解質代謝の意義が上述の如く、尙論議的となっている時 Remington⁸⁾は副腎不全症状出現は交感神経機能の喪失によると主張している。また当教室における家兎副腎別出後永続生存に関する諸実験において⁷⁾、かつて Rogoff によりその意義の全く否定せられた髓質の機能廢絶も重要な役割を演ずることが指摘され、交感神経-副腎髓質系の役割も

考慮されねばならない事情にある。

尙、食塩喪失説を主張する Loeb 等¹⁾の食塩排泄平衡試験は犬において副腎別出後死に至るまでの短時間の間に行われ、その成績を検討するも必ずしも顕著なるナトリウム排泄負平衡が見られない。これに関し、Loeb 実験を追試し食塩喪失説を支持した Harrop 等²⁾は Loeb 実験が別出手術の手術侵襲及び麻酔の影響の未だ充分消失しない時期に行われたものとして、術後強力なる ACE (副腎皮質抽出物) 投与により犬を生存させて、一定期間後 ACE 投与を中止して食塩排泄平衡試験を行ったのである。Harrop 等の成績においては、ACE 投与中止後明白なるナトリウム負平衡が出現し、ACE 投与によりこれが陽性化することが示されている。ここに考慮すべきは、電解質代謝作用の強い DCA 投与は明らかに食塩の体内停滞を来し、従ってこのような電解質ステロイド投与により生存させた動物における投与中止後のナトリウム負平衡は、電解質ステロイド投与時の停滞食塩の排泄増加とも考える可能性も存する。

以上の理由からして著者は、血清電解質異常の容易に招来される犬について副腎別出を試み、その副腎不全症出現に対する髓質機能の意義を検討する目的で Epinephrine 投与を試み、かつ血清電解質異常の招来される機序について食塩排泄平衡試験を再検討する次第である。

II. 実 験 方 法

実験には体重 10kg 前後の健康成熟犬を使用し、副腎別出手術は背側より主として一次的に行い、麻酔は塩酸 Procaine による局所麻酔、あるいは Ravonal による静脈麻酔によった。Epinephrine は三共製品塩酸 Epinephrine 注射液 (1:1000)、Cortisone は Merk 製品 Cortisoneacetate、DCA は武田製品 Syncorta を使用

* 千葉大学医学部第2生理学教室 (福田篤郎教授)

した。

血清および尿各成分の定量はナトリウムは Kramer-Gittlemann 法⁹⁾により常に規準液および盲検の対象をおき絶対値の正確さを期し、沈澱生成は $10 \pm 1^\circ\text{C}$ にて行った。カリウムは Kramer-Tisdall 法による水野の方法¹⁰⁾に従い、尿アンモニヤは Folin のパームチット法、尿クロールは Mohr 法、血清重炭酸塩は Scribner 法¹¹⁾により、尙血液濃縮の推定のため血清蛋白濃度及び赤血球数算定を行った。

採血は下肢静脈より行い副腎不全時の虚脱状態では、総頸静脈よりこれを行った。

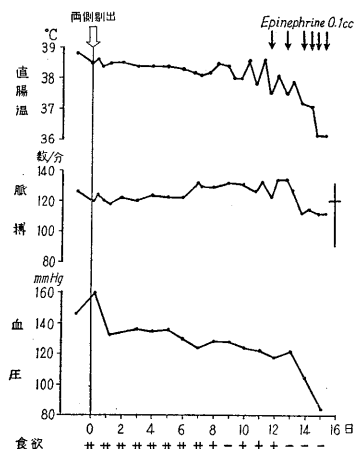
採尿は飼育箱の採尿装置でトルオール下に蓄尿し、最後に Nélaton 氏カテーテルにより残尿を採り、1日量を計量した。

血圧測定は Allen¹²⁾の間接的血圧測定法を改良し、左大腿部にマンシェットを着用し膝部動脈音を聴診し、最大最小血圧を測定した。飼料は一定量の米飯及び魚肉を与え、体重 kg 当り 70kcal としてこれに 2g の食塩を负荷して飼育した。

Ⅲ. 実験成績

A. 副腎不全症の発現について

副腎剔除後の一般経過は第1図に示す如くである。手術侵襲を極度に軽減し、剔除後数日間是一般状態極めて良好で正常犬と殆んど異ることなく、食欲も極めて良好である。しかしなが



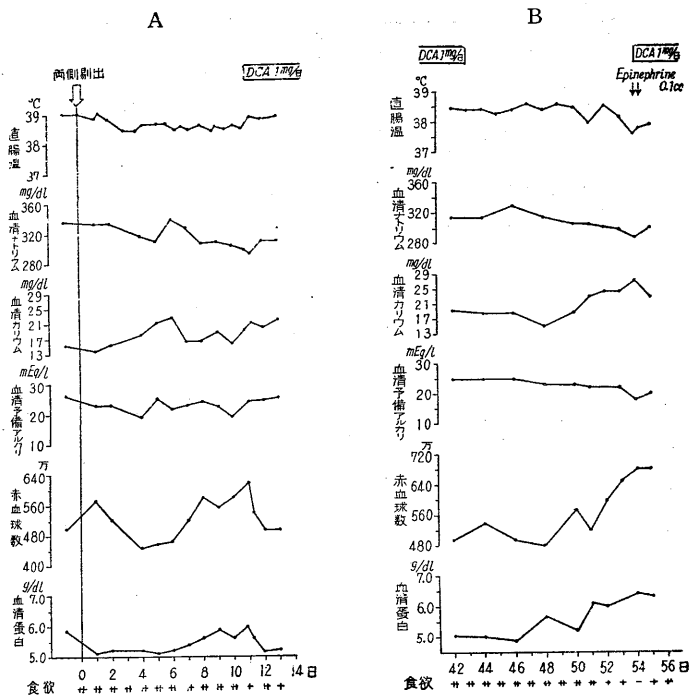
第1図 両側副腎剔除後の一般経過

ら、図に示す如く直腸温ならびに血圧は漸次低下し、しばしば軽度の戦慄の発するのを観察することができる。この様な経過において先ず食欲が漸次減退し、直腸温ならびに血圧下降も更に進行するが、突如として急速な直腸温下降、血圧下降の発来を見、いわゆる急性発症を呈し虚脱状態に陥る。この様な急性発症に際しては図に示す如く、Epinephrine 0.1cc 皮下投与を試みると著明な戦慄発現と共に直腸温上昇し血圧も回復する。即ち急性発症においては、髄質欠損に基づく Epinephrine 分泌欠損が主要なる役割をなすかに見える。然し乍ら、Epinephrine 効果は永く持続せず再び急性発症を見、反復 Epinephrine 投与を繰返すついに Epinephrine に無反応となり、致死的経過をとる。

急性発症発来時の状態は DCA 投与 (1mg/日) により生存させた後、その投与中止後に出現する場合も全く同様である。急性発症に至るまでの日数は第1表に示す如く、副腎剔除後無処置経過の場合においては平均12日であり、之に対し DCA 投与により生存させその投与中止後の発症においては遙かに短かく平均6日である。この両者の差が何により招来されるのか、副腎不全症発現経過における血液所見をみると第2図A, Bに示す如くである。即ち副腎剔除後の経過及び DCA 投与中止後の経過、何れにおいても血清電解質においてはナトリウム漸減、カリウム漸増が見られ、かつ多少の Acidosis 傾向を見る。しかし赤血球数増加ならびに血清蛋白濃度の上昇にみる血液濃縮所見あるいは血清カ

第1表
副腎剔除後の経過及び DCA 投与中止後における
副腎不全発症までの日数

例	副腎剔除後	例	DCA投与中止後
1	13	1	3
2	15	2	8
3	16	3	6
4	13	4	6
5	14	5	7
6	11	6	6
7	11	7	10
8	9	8	5
		9	6
平均	12日	平均	6日



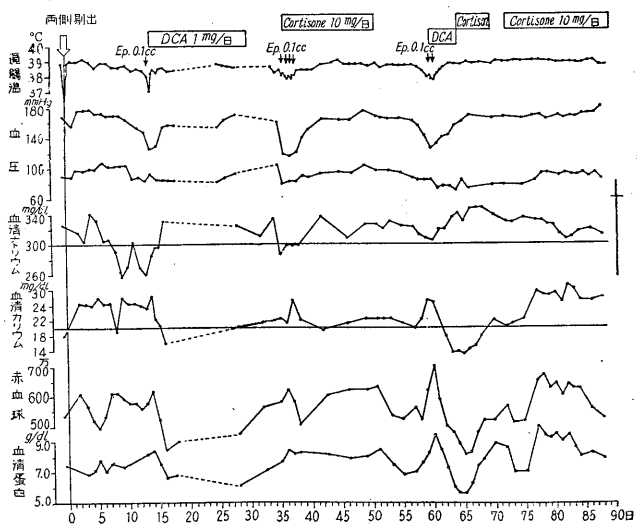
第2図 副腎剥出後の経過

リウム濃度の上昇は、副腎剥出後の観察においては軽微かあるいは不確定であるが、DCA 投与中止後においては極めて顕著に出現する。すなわち血液所見の変化特に血液濃縮出現に関しては、あらかじめの DCA 投与による水血症出現と、投与中止後におけるその解消の影響が加わるのではないかと考えられる。この事柄は塩水分代謝に対し影響の少ない Cortisone 投与中止後の副腎不全症出現においては、副腎剥出後の観察に見る如く著明でないことよりしても想像できる (第3図B参照)。すなわち、副腎不全時血液濃縮出現には前処置が著しく関与するかの感がある。

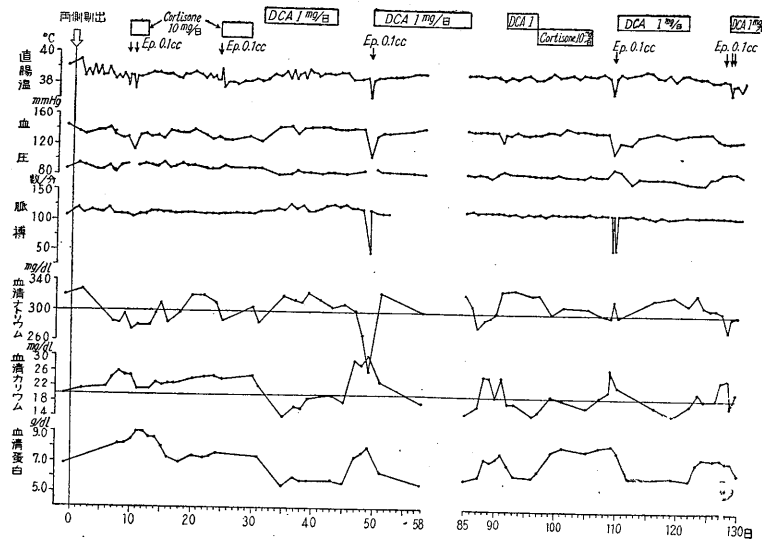
次に血清電解質異常と副腎不全発症との関係については第3図A, Bに見る如く、急性発症を Epinephrine 投与により救助するとともに DCA (第3図A) あるいは Cortisone (第3図B) 投与により生存させた場合

について検討を試みた。すなわち、第3図Aに見る如く DCA 投与により副腎不全状態を改善させた場合においては、血清ナトリウム濃度は直ちに上昇し血清カリウム濃度は低カリウム血症を呈するまで低下し、同時に水血症を呈する。これに対し、Cortisone により副腎不全状態を改善させた場合は第3図Bに見る如く、血清ナトリウム濃度は低下したままで一般状態は改善され食欲も回復する。この際の血清カリウム濃度の動きは必ずしも単純ではなく、本例においては一般状態改善とともに漸次正常に復した。なお本例においては Cortisone 投与を4日間にて中止し以後の経過を観察したが、血清ナトリウム濃度は自

然回復し血清カリウム濃度は漸次上昇の傾向を示し、その後10日間無症状に経過するうち突如として急性発症が出現し、再び Epinephrine, Cortisone 投与により回復したのである。なお注目すべきことは Cortisone を DCA 投与に変えたと、型の如く高ナトリウム、低カリウム状



第3図A DCAあるいはCortisoneによる長期生存



第3図B DCAあるいはCortisoneによる長期生存

態となり、かかる状態の存続後に DCA 投与を中止すれば急速に低ナトリウム、高カリウム状態が出現し、ついで急性発症を見る事である。すなわち、副腎不全時にみる血液濃縮ならびに血清ナトリウム濃度低下、血清カリウム濃度上昇といった血液所見は特に、電解質ステロイド投与中止後に顕著に出現する。このことはDCA投与中止後の発症が促進される原因とはなり得るであろうが、Cortisone 実験に見る如く、血清電解質異常が必ずしも副腎不全現象に直接関係するものとは考え難い。尙、Cortisone 投与により生存させた場合には、第3図Aの後半に見る如くしばしば血清カリウム濃度は顕著な上昇を示し致死的経過をとる場合が存する。この際、血清カリウム濃度は 30mg/dl に達する異常値を示すが血清ナトリウム濃度は 300mg/dl を維持していた。すなわち、低ナトリウム血とは称され難い状態にあり、血清ナトリウム濃度ならびにカリウム濃度の変動は常に相伴うものとは限らないことを知った。

尙血清カリウム濃度異常上昇に基づく心機能障害が副腎不全時の致死的経過をとるとの見解もあるが¹³⁾、著者の観察では心機能障害の突発はすべて房室ブロックによる徐脈発作であり、これに伴い直腸温も急速かつ顕著に低下する。

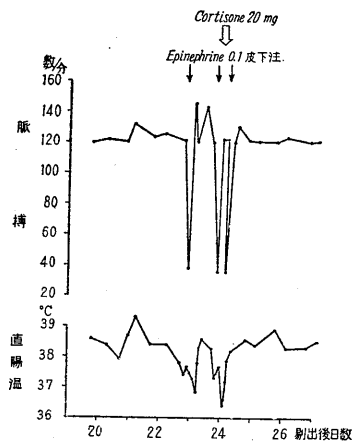
しかしながらこの際における血清カリウム濃度は必ずしも異常値を示さない(第2表)。多くの場合血清カリウム濃度の軽度の上昇を伴うが、この時 Epinephrine 0.1cc 皮下投与を試みると徐脈発作は十数分をいわずして回復することを知った(第4図)。勿論 Epinephrine 投与は第5図に見る如く、副腎不全時においても血清カリウム濃度の低下を来すが、第2表に見る如く Epinephrine 投与によ

る徐脈発作回復時には著明な血清カリウム低下は未だ現われてない。すなわち徐脈発作

第2表

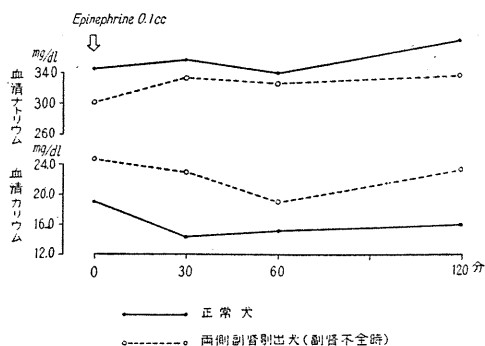
徐脈発作(房室ブロック)時並に Epinephrine (0.1cc) 投与による回復時の血清カリウム濃度 (mg/dl)

例	発作時	回復時
1	{ 24.7mg/dl 36.9	25.4mg/dl 32.7
2	31.6	
3	25.8	20.3
4	{ 30.5 33.5 32.5	30.5



第4図

徐脈発作(房室ブロック)に対する Epinephrine 効果

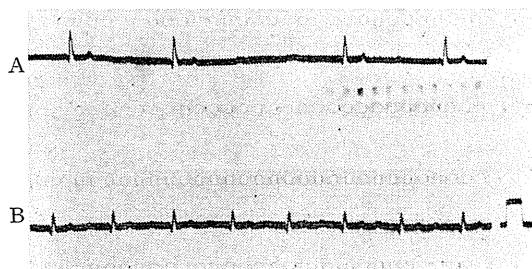


第5図

Epinephrine 皮下注射の血清ナトリウム及びカリウムに及ぼす影響

の出現は血清カリウム濃度とは無関係にも出現し、これが Epinephrine により極めて有効に防止されることを知った。但し Epinephrine 投与効果は暫定的であり、再び徐脈発作は反復するが、前述の直腸温に対する Epinephrine 効果と同様に漸次 Epinephrine に無反応となり、遂に心機能不全により倒れる場合も観察されうる。尙、副腎不全時に現われる心機能障害は殆んどこの様な徐脈現象が主体であり、第6図に示す如く心電図形態において、高カリウム血症特有のT波増高、P波消失は現われない事を知る。

以上の実験から、副腎不全症の発現に関しては血清電解質異常、血液濃縮は必ずしも直接原因とはならず、かつ急性発症にみる低体温、低血圧、あるいは徐脈発作は何れも、Epinephrine 投与により急速に改善され得るが、やがて Epinephrine に無反応となり Epinephrine のみにては救助し難いことを知った。すなわち、急性発症に関しては髄質欠損に基づく因子は存在するが、その反応性を維持すべき他の因子も存



第6図

徐脈発作(房室ブロック)の Epinephrine による回復
A; 発作時. B; 回復.

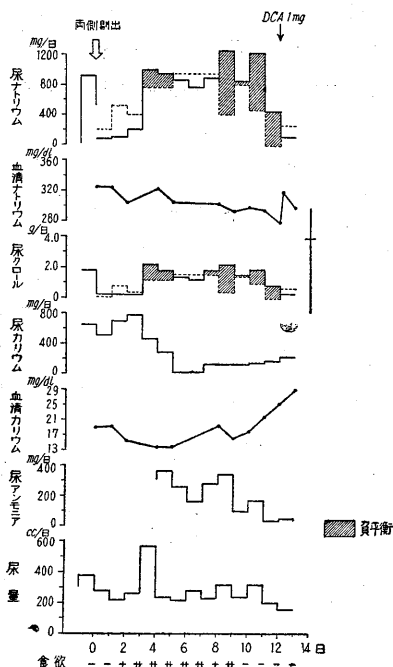
在することを知った。尙、Cortisone ならびに DCA 投与による生存に関しては、後に検討することとし、次節において食塩排泄平衡試験を検討する。

B. 食塩排泄平衡試験

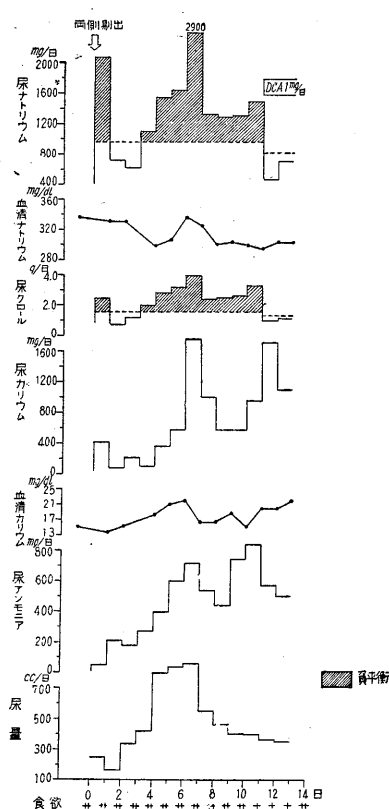
副腎不全時において食塩排泄負平衡が現われる事は多くの業績により強調されているが、その量的問題については尙論議が存し、Swingle 等¹⁴⁾は尿中食塩排泄負平衡のみにより副腎不全時の脱水症状は説明されぬと強調している。序言に述べた如く、副腎不全発症前に電解質ステロイドを投与することが問題となり得る可能性があり、かつまたこの事柄が前節実験において如実に示されえたので、ここに著者は副腎不全発症時における食塩排泄平衡試験を行い、副腎剔出後無処置の経過ならびに DCA 投与中止後の副腎不全発症時における食塩排泄平衡試験を比較検討した。第3表に見る如く副腎剔出後の3例中1例を除いてはナトリウム負平衡量は極めて僅かであり、これに対し DCA 投与中止後における2例では著明なナトリウム負平衡が招来されることを知った。その経過は第7図A、Bに示す如くである。特に第7図Bに見る如く DCA 投与中止後の副腎不全発症においては、不全時の食欲減退に伴い摂取食塩量は著しく軽減するに拘らず、尿量ならびに食塩排泄量が大であることが特長である。副腎剔出後の副腎不全発症においては多く尿量も減少し、ナトリウム負平衡量も少い。ただし剔出後観察にみる第3例では著明なナトリウム負平衡を見た。本例における特筆すべき所見として尿中アンモニヤ排泄量の著しい増量があり、かかることは他の何れの例にも見なかった(第7図C)。従って本例は特殊条件に基づく Acidosis のため、これに伴い食塩の喪失を見たものと想像される。尙本

第3表 尿中ナトリウム排泄平衡試験(g)

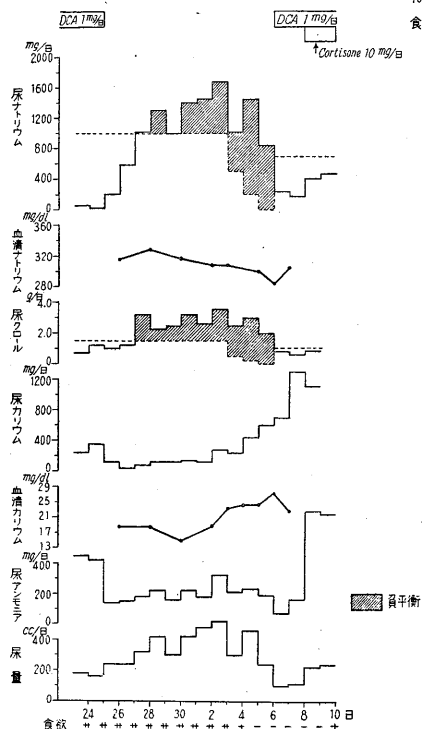
	摂取総 Na量(g)	排泄総 Na量(g)	負平衡 量(g)	副腎不全 発症日数
DCA 投与中止後				
1	6.20	9.36	-3.16	6
2	8.50	11.97	-3.47	10
副腎剔出後				
1	6.16	8.11	-1.95	12
2	7.00	7.96	-0.96	8
3	10.56	16.07	-5.51	13



第7図A 食塩排泄平衡試験



第7図C 食塩排泄平衡試験



第7図B 食塩排泄平衡試験

例においてはアンモニア排泄量増量とともに尿量も著しく増加した。

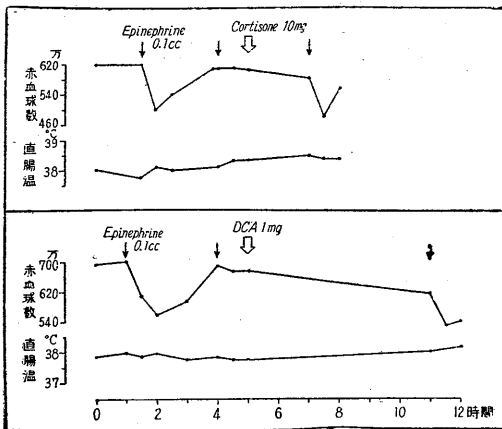
以上の実験からして、副腎不全症の発現に見る食塩排泄負平衡は DCA 投与中止後において極めて顕著に出現するものであり、かつこの際尿量も大である事を考えれば、DCA 前処置による塩水分の体内停滞がその投与中止により解除されるものと考えられる。これに比して、副腎剔除後の無処置経過においては食塩排泄負平衡は極めて軽微であり、それにより血清電解質異常を説明

しうるか否かが問題となる程度である。

C. Epinephrine 反応性と皮質ステロイド

A 節の実験に述べたごとく、副腎不全発症経過において直腸温下降に対する Epinephrine 投与効果は投与を反復するに従い消失し、遂には無効となるのであるが、この際比較的初期より Cortisone あるいは DCA を同時に併用すれば、かかる無反応性は消失し正常体温に復帰することは第3図に示した如くである。

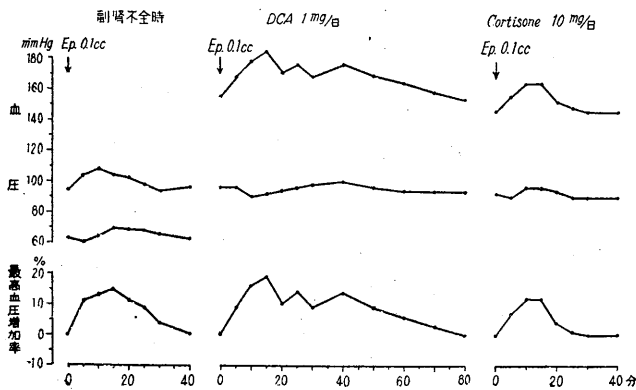
ここに Epinephrine 反応性維持に対する Cortisone 及び DCA の意義が認められねばならない次第であり、これに関し著者は更に副腎不全時の循環虚脱を特長づける血液濃縮の出現に対し検討を試みた。即ち第8図に示す如く、血液濃縮出現時に Epinephrine 0.1cc 皮下投与を試みると急速なる赤血球数減少にみる濃縮解除が現われることを知った。この様な現象は正常犬においては見られぬことである。しかしなが



第8図 赤血球数増加に対する Epinephrine 反応性

ら、その効果は一過性であり 1~2 時間後には再び赤血球数増加を見、再度 Epinephrine 投与するもその反応性の見られぬことは第8図に示す如くである。しかし、この際 Cortisone あるいは DCA を速刻投与すれば赤血球数は漸次低下を開始し、これに伴い Epinephrine 投与による赤血球数減少反応は再び現われるに至る。すなわち、ここにおいても Epinephrine 反応性維持に対する Cortisone 及び DCA の効果が認められたのである。尙本実験は血液濃縮が食塩喪失説にいう如く、体液成分の腎よりの脱出によって招来されるものでなく、体内塩水分の分布異常に由来することを教えるものである。

つぎに副腎不全発症時の血圧下降に対する Epinephrine 反応を検討すると第9図に示す如くである。副腎不全発症時における血圧下降時には Epinephrine 0.1cc 皮下投与による血圧上



第9図 Epinephrine 皮下注射による血圧反応性

昇も軽微となり、Cortisone あるいは DCA 投与により血圧の回復するに至って顕著となる。しかしながら副腎不全発症時の低血圧時においても全く Epinephrine に無反応ではなく、この際の上昇度を血圧値に対する比率、即ち増加率として表現すれば、副腎不全時及び Cortisone あるいは DCA 投与による副腎不全回復時においても、殆んど変りのないことを知る。

以上のことより副腎不全発症時における Epinephrine 反応性消失は直腸温低下ならびに血液濃縮現象に対して見られることを知る。

IV. 考 察

副腎不全症に關しての塩水分代謝障害の役割については、序言に述べた如く今日尙未決着の事柄といえるのであり、Swingle 等⁴⁾の如きは副腎不全時無尿状態においても、血清電解質異常の見られることによりこれを腎よりの喪失とは解し難いことを強調し、かつ血清電解質異常の存続のままでも生存しうることを述べ、食塩喪失説に対する反対論を唱えている。著者の実験もまた Swingle 等の説を支持する結論に到達し、特に食塩排泄負平衡があらかじめの電解質ステロイド投与により著しく増大される事を証明しえたことは、従来の成績の不一致を充分説明しうるものと考えられる。即ち実験が副腎剔除後の無処置後の無処置経過においてなされたか、あるいは副腎剔除後 DCA 投与により一定期間生存させその投与中止後に観察されたかに

より著しく成績は異なることを明らかにした。特に著者の観察した副腎剔除後の無処置経過において顕著な食塩排泄負平衡を示した例外例においては、著明な Acidosis と利尿を見たことは、この様な前処置の有無以外に Acidosis を招来する因子があれば、食塩排泄負平衡も著明に現われることを教えるものである。手術侵襲も軽微で剔除後の Acidosis も末期の無尿期に到るまで現われない場合において

は、食塩排泄負平衡は殆んどみられないか、あるいは極めて軽微に止るものである。ただし、このような際にも血清電解質に見るナトリウムの低下ならびにカリウム上昇が尙出現しうことは、このような血清電解質変動が細胞内外の両液相における電解質移行によって生ずるものと解釈される。尙副腎不全発症時の血液濃縮が Epinephrine 投与により極めて急速に解除されることも、既述の如く食塩喪失説によつては説明されえず、これも体内水分分布異常によるものと解釈されうる。これ等に関し Gaudino 等¹⁵⁾は副腎不全時における細胞内液相の増大、細胞外液相の著明な減少を認めていることは著者の結論を支持するものと考えられる。

副腎不全発症が DCA 投与後においては発症までの日数が著しく短縮することを観察しえたが、恐らくこれは DCA 投与により体内に停滞した塩水分が、DCA 投与中止後急速に排除されるに伴い著大な塩水分代謝障害を来し、その結果副腎不全症出現を早めると解釈することができる。しかしながら、血清電解質異常が必ずしも副腎不全症出現の絶対的支配因子でないことは、著者の Cortisone 投与例或いは Swingle 等⁴⁾の実験にこれを認めうる。

ここにおいて、著者は決定的支配因子として直腸温下降並びに血液濃縮に対する Epinephrine の有効性が皮質ステロイド投与により始めて維持されることを重視したい。なおこれに関し Epinephrine 投与により容易に回復し得る徐脈発作（房室ブロック）が血清カリウム濃度上昇とは別に出現し、この Epinephrine 反応性も上記と同様な関係にあることも特筆すべきことである。要するに皮質ステロイド分泌欠損状態においては Epinephrine 必要量が増加し急性発症出現を見るものと考えられる。かかる意味からすれば、副腎不全症は皮質ならびに髄質欠損に基づくものと考えられる。尙ここに観察しえた Epinephrine 反応性に対する皮質ステロイドの意義については類同の現象を既に Ramay 等¹⁶⁾が副腎別出犬の Norepinephrine 血圧反応性について観察し、また Lehmann 等¹⁷⁾は反射性

Sympathin 分泌に対する皮質ステロイドの意義を認め、著者の観察を併せて交感神経機能維持に対する皮質ステロイドの意義として認識されうものである。塩水分代謝障害とは別に、急性副腎不全は交感神経機能失調によると述べている Remington⁷⁾の見解も従つて充分理解できるわけである。ただし、これらの基本的障害が犬においては、招来され易い電解質異常により著しく促進され、容易に副腎不全症状を呈するものと解せられる。

V. 結 論

1. 犬における副腎不全急性発症は副腎別出後の無処置経過においては平均12日であり、DCA 投与中止後の発症においては平均6日と短縮される。

2. 何れの場合にも、血清ナトリウム濃度の低下及び血清カリウム濃度の上昇を見るが、赤血球数増加ならびに血清蛋白濃度増加にみる血液濃縮は DCA 投与中止後の副腎不全症においてのみ顕著である。

3. 副腎不全発症経過における食塩排泄の負平衡は DCA 投与中止後においては顕著であるが、別出後の無処置経過においては、特に Acidosis を伴わない限り、極めて軽微である。

すなわち食塩喪失説は特殊の場合しか成立しない。

4. 血清ナトリウム濃度の低下が副腎不全発症に直接関係のないことは、Cortisone 投与による生存例においても観察される。

5. 急性発症時における直腸温下降、血液濃縮現象、並びに徐脈発作（房室ブロック）は、Epinephrine 投与により急速に改善されるも、Epinephrine 効果は一過性であり反復投与時には容易に無反応となる。Cortisone 或いは DCA 投与によりその反応性は維持され副腎不全症より回復する。

6. 以上の事より副腎不全急性発症に関しては、皮質ステロイド欠損に基づく Epinephrine 反応性消失が重要な役割をなし、体内塩水分分布異常に主として由来する血清電解質異常が

その発症を促進すると解釈される。

稿を終るに当り、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜った恩師福田篤郎教授に深く感謝致します。尚併せて教室員諸兄姉の御援助に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Loeb, R. F., D. W. Atchley, E. M. Benedict and J. Leland (1933) Electrolyte balance studies in adrenalectomized dogs, with particular reference to the excretion of sodium. *J. Exp. Med.* 57, 775
- 2) Harrop, G. A., L. J. Soffer., R. E. Worth and J. H. Trescher (1933) Studies on the suprarenal cortex. I. Plasma electrolytes and electrolyte excretion during suprarenal in the dog. *J. Exp. Med.* 58, 17
- 3) Swingle, W. W., W. M. Parkins, A. R. Taylor and H. W. Hays (1938) A study of the circulatory failure of adrenal insufficiency and analogous shock-like conditions. *Am. J. Physiol.* 123, 659
- 4) Swingle, W. W., E. Collins, G. Barlow and E. J. Fedor (1952) Bioassay and physiological effects of cortisone on adrenalectomized dogs. *Am. J. Physiol.* 169, 270
- 5) Orvis, A. L and A. Albert (1955) Gamma counting of radiosodium and radiopotassium in the bioassay of aldosterone and related steroid. *Endocrinology.* 56, 218
- 6) Silvette, H. and S. W. Britton (1936) Carbohydrate and electrolyte changes in the opossum and marmoset following adrenalectomy. *Am. J. Physiol.* 115, 618
- 7) 福田篤郎 (1955) 家兎副腎欠損症状について 内分泌 2, 207
- 8) Remington, J. W. (1951) Circulatory factors in adrenal crisis in dog. *Am. J. Physiol.* 165, 306
- 9) Kramer, B. and I. Gittlemann (1923) An iodometric method for the determination of sodium in small amount of serum. *J. Biol. Chem.* 62, 353
- 10) 水野重恒 (1954) 抗ヒスタミン剤とカリウム代謝 日本生理誌 17, 644
- 11) Scribner, B. H. and J. C. Caillouette (1954) Improved method for the bedside determination of bicarbonate in serum. *J. A. M. A.* 155, 644
- 12) Allen, F. S. (1932) A new method for taking repeated reading of blood pressure. *Arch. Path.* 5, 651
- 13) Swingle, W. W., G. Balow., E. Collins., E. J. Fedor., W. J. Welch and J. M. Rampona (1952) Serum potassium and electrocardiographic changes in adrenalectomized dogs maintained on cortisoneacetate. *Endocrinology.* 51, 353
- 14) Swingle, W. W., W. M. Parkins., A. R. Taylor and H. W. Hays (1937) Influence of adrenal cortical hormone upon electrolyte and fluid distribution in adrenalectomized dogs maintained on a sodium and chloride free diet. *Am. J. Physiol.* 119, 684
- 15) Gaudino, M. and M. E. Levitt (1949) Influence of the adrenal cortex on body water distribution and renal functions. *J. Clin. Invest.* 28, 1487
- 16) Ramey, E. R., M. S. Goldstein, and R. Levine (1951) Action of norepinephrine and adrenal cortical steroids on blood pressure and work performance of adrenalectomized dog. *Am. J. Physiol.* 165, 450
- 17) Lehmann, G. und H. Kinzius (1949) Epinephrektomie, Cortininjektion und Adrenalin gehalt des Blutes. *Pflüger. Arch.* 251, 404

Summary

The negative balance of sodium chloride excretion and the hemoconcentration, which have been believed to be the characteristic features of adrenal insufficiency in dog could be demonstrated remarkably only after cessation of DCA treatment.

Epinephrine was found to be effective to prevent the fatal fall in rectal temperature and blood pressure. However, these effects were maintained only when cortisone or DCA was simultaneously given.

(2nd. Department of Physiology, Chiba University School of Medicine. Prof. T. Fukuda)

地方小学会報

第11回近畿生理学会談話会 (つづき)

時 昭和30年7月3日(日)午前8時30分より

所と当番 国立山中病院講堂 斎藤幸一郎

12. 小笠原今男 (阪大第2生理)

血圧の第3動揺 (2)

特に脳幹網様系との関係

血圧の第3動揺とは、生理的に発現する、心搏性、及び呼吸性以外の、不明の原因、或は複雑な機構に依って起る血圧の規則的な動揺を概括している。此の血圧の第3動揺が股動脈に於て、血圧80~100mmHgの時に最も発現し易く、又交感神経の緊張を高めた状態にある時発現する傾向があることは既に報告したが、今回は前とは異った短週期(約4秒)の第3動揺を明らかにしたので、此の第3動揺と脳幹網様系との関連を求めて実験を行った。実験は家兎を無麻酔にて用い、呼吸、血圧、横隔膜筋電図を同時に電磁オシログラフに記録した。脳幹刺戟は頭蓋骨上より双極的に、Duration 1msecの矩形波で連続刺戟を行った。その結果は次の様に考えられる。

A) 血圧第3動揺について

- 1) 刺戟直後に血圧第3動揺が出現する部位
- 2) 刺戟直後そのために血圧第3動揺が消失する部位

3) 刺戟に対して何等反応のない部位

B) 血圧上昇と呼吸促進

第3動揺(短週期のもの)は呼吸の促進又は抑制及び血圧の上昇下降とは直接の因果関係はない。

C) 短週期血圧第3動揺

- i) 週期が短い
 - ii) 此の種の週期性変化を呼吸曲線や横隔膜筋電図に認めない。それ故呼吸中枢の活動性の動揺に原因を求める事は出来ない。
 - iii) 網様体を刺戟しているため多くの場合血圧の変動を伴うが、之と因果関係はない。
 - iv) 網様体を刺戟しているため、多くの場合呼吸の変動を伴うが、之と因果関係はない。
- それ故、此処に述べている、短週期第3動揺の原因を、脳幹殊に中脳網様体の血管運動中枢の興奮性の動揺に求めたい。

13. 河村洋二郎・藤本順三 (阪大歯学生理)

半側除脳動物の脳波 特に紡錘波について

半側除脳猫の残留脳々波と自発性異常運動との関係を追究した。半側切除後に大部分の動物で残った側の皮質、視床、中脳或は延髄部迄に同期する6~12/secの紡錘波が出現した。

此の時期には異常運動を全く認めず動物は昏睡状を呈した。上位脳の紡錘波が消失すると延髄脳波は14~20/secの小速波を示し不規則な両側性の四肢筋運動(チック様運動)が生じた。更に脳波全体が抑制に傾くとチック様運動は認められなくなるが、この時期には刺戟により容易に四肢にクロース様運動を起し得た。

斯くの如く脳の上位機能の低下と共に末梢に現れる運動に相違が出て来る。

紡錘波について観ると、本実験で認めた紡錘波の素波は23匹25回の実験で約6~12/sec, 50~200 μ Vであり、このリズムは皮質より延髄迄同期した。紡錘波が延髄に迄波及した時の背景脳波は皮質では約6/sec, 30 μ Vの徐波を示すが延髄では約14/secの小速波であった。中脳部以下に紡錘波を認めなくなった後も視床、大脳皮質には長く紡錘波を認めた。紡錘波の周期は約2~4秒の場合が最も安定して居るが、脳の機能低下によって8~12秒に延長変化する。紡錘波は求心性刺戟により変化を受けた。即ち、(1)紡錘波の出現して居る時期で紡錘波と紡錘波の間に音響刺戟或は歩行運動が生じた場合は紡錘波の周期は短縮した。(2)紡錘波の途中で刺戟を与えた時はその紡錘波の持続が短縮され、次の紡錘波の出現が遅れ其後に紡錘波が頻回に出現した。(3)紡錘波の認められない時期に於いても音響刺戟又は歩行様運動によって紡錘波が誘発されることがあった。

以上、半側除脳動物に於いて紡錘波が容易に出現し、且つ此等脳波変化と異常運動とに相関性のあることを観察し、特に此の場合に出現する紡錘波の変化とその意義について考察を加えた。

14. 藤下成周・細谷雄二 (大阪市立大生理)

墨汁を静注した家兎の ERG について

肝臓障害時における夜盲は古くより知られているので、肝臓機能障害と網膜の光感度との間の相関関係を研究するため、薬物によって肝臓を障害させた家兎の ERG について実験した。最初、四塩化炭素で肝臓を障害させたが、四塩化炭素では、網内系及び小葉中心部を広い範囲にわたって障害するので、網内系のみを障害すると考えられている墨汁を実験に用いた。

2時間暗順応し、その上、ウレタンで麻酔した家兎の ERG の b 波の閾値を先ず調べた。照射光としては赤色光 (650~800mμ), 緑色光 (500~540 mμ), 紫色光 (320~480μm) を用いた。之等の照射光の強度を熱電対で計ったエネルギーの相対値の対数であらわすと、赤・緑・紫三色光に対する閾値は、注射前の家兎では各々 0.28, 1.7, 0.9 であった。しかしながら、墨汁を静注した家兎では、緑色光及び紫色光に対する閾値は、注射前と殆んど変わらないが、赤色光に対する閾値は上昇する事を知った。しかし、その後14日経過すると赤閾値は、再び注射前の閾値にまで低下した。

次に、閾値より強い一定強度の光 (閾値の5倍) で照射した際の b 波の大きさを観察した。同一の家兎では、墨汁を静注すると、注射前に比して、赤色光による b 波の大きさは減少し、緑及び紫色光による b 波の大きさは変化しなかった。

これらの成績 (閾値についての成績と b 波の大きさについての成績) によると、網内系の障害によって赤色光に対する感度が低下するのではないかと考えられる。

網内系の障害により、網膜の代謝に変化を生じ、桿体が障害せられたとするならば、緑又は青色光に対する感度が低下しなければならないと思われるから、赤色光に対する感度が低下するのは、おそらく、錐体の機能低下によると考えている。

15. 伊藤秀三郎・女川 清 (東京歯大生理)

嗅覚に関する研究 (予報)

鼻粘膜 (使用動物: 家兎) の嗅部は色素沈着に依って様々の色を呈しているため肉眼的にも明らかに呼吸部と区別する事が出来る。擬て此の色素沈着度合が濃い程嗅覚感受性が強いと云われるので演者等は此点を追究すべく以下の如き実験を行

い聊か知見を得たので此処に報告する。

第1は非観血的に記録した呼吸様相の変化を指標として選り嗅物質を動物に与えることに依って呼吸様相が停止、緩徐、無変化及び促迫に移り先者になった程嗅物質に依る影響が大と解釈即ち嗅覚感受性が高いと、亦促迫の際も嗅覚感受性が高いと解釈した。更に此点を数値化するため

$$\text{嗅係数} = \frac{R' - R}{R} \times 100\% \quad (R: \text{正常時の単位時間内呼吸数}, R': \text{嗅覚刺激時の単位時間内呼吸数})$$

として表現した。斯くすると前述の停止、緩徐、無変化及び促迫は -100, -K, 0 及び +K (K: 任意数) となる。擬て嗅物質としては醋酸アミルを、稀釈剤にはデ・エチル・フタレート (無臭) を使用した。尚嗅覚刺激時間は常に15秒に一定した。斯くて嗅部の色調が茶褐色より薄桃色と同属家兎に於いて移行するにつれ呼吸変化様相も停止、緩徐、無変化及び促迫に移り変って行く事を認めた。

第2は嗅球活動電位を選り嗅覚感受性を吟味した。其手技を簡単に記すと動物を腹位に固定し先づ嗅球を露出し 15μ 内外の微小電極に依って嗅球僧帽細胞附近に挿入し、電位変動を電磁型及び陰極線型オシログラフに誘導し記録観察した。斯くすると 0.5mV 程度の自発放電が見受けられ嗅覚刺激と共に其放電頻度が増加した。従って其放電頻度の変化から嗅覚感受性を検討した。尚嗅物質と稀釈剤は前項と同様であって自発放電は其の頻度が大体一定であるので比較する際には其れを対照に選んで行った。斯くすると色素沈着が濃いものは薄いものに比較し嗅物質濃度を高めた場合に其の頻度が増し薄いものは其の増し方が少いことを認めた。

以上の問題を解釈するには演者等は波動説とか微粒子説とかのみに依って行い得ないと思うが其点についての報告は後日の機会に譲る事にした。

16. 正路倫之助 (神戸医大第1生理)

意志の自由に就いて

地球の進化の一定時期に無機質より生じた有機成分の複雑化に伴うて生命現象が発現したと同様に、動物の環境適応の進化を司る神経系の進化に伴うて哺乳動物に現われた原始的意識現象が発達して人間の意識に到達したものと考え。

神経系の生理的機能と意識との間に原因と結果との関係があるかどうかを検討する。脳に対する

酸素供給の杜絶が意識現象全部を消失せしめること、並びに大脳皮質の知覚領の障害がこれに対する局所性感覚の缺損を来すことは確実であるから、此等の意識現象に対して神経系の生理現象が意識現象成立の少くも一条件となることは確実と認められる。然るに随意行為発現の第一歩となる意志発動の心的現象に対して其存在の条件となる神経系の生理現象は未だ少しも発見せられていない。故に少くも現在の知識に於いては、意志の自由の存在は心理的内省によって各人がこれを認める外は無い。

17. 河村洋二郎・船越正也・三木敬一（阪大歯学生理）

歯髄温度に関する研究（第2報）三叉神経刺激による変化

先に三叉神経刺激により麻酔犬の歯髄温度上昇、血圧下降等を報告した。今回は中枢機能状態と血圧呼吸歯髄温度との相関及び他部刺激により生ずる之等の反応の相違について現在迄に得た実験結果を報告する。

①麻酔犬の歯髄温度は下顎歯より上顎歯の方が高く前歯部より臼歯部の方が高い傾向がある。歯髄腔容積と歯髄温度との間には歯髄腔の大なるもの程高い温度を示す傾向がある。しかし歯髄温度は歯髄腔の大きさよりもその位置に主として関係がある。

②麻酔時、三叉神経電気刺激を行った場合、呼吸数の増加、血圧の下降を示し歯髄温度は上昇した。

③無麻酔動物では三叉神経刺激により歯髄温度の下降が認められた。

④除脳動物では三叉神経刺激により歯髄温度に変化を認め難かった。

⑤除脳第1日（除脳操作に使用した麻酔効果が残存すると考えられる）に於いては三叉神経刺激により麻酔時と同様血圧の下降が認められたが刺激により血圧の下降→上昇→下降のW型の経過をなし呼吸は初期には抑制次で促進、正常の3段階を経る。皮膚電気刺激ではその反応形が三叉神経の場合と相違した。

第2日目では歯髄刺激により血圧は上昇呼吸の抑制次いで促進が認められた。

18. 中西政周・井上康夫（大阪医大生理）

呼吸運動の神経性調節に於いて自律神経が演ずる役割（3）気管の器械的刺戟によって起る呼吸運動の反射的变化と呼吸筋の交感神経支配

吾々は前に（本研究(1)）家兎で両側迷走神経切断後、一側迷走神経の中心断端を刺戟して起り続けて居る横隔膜の呼吸位停止が、両側頸部交感神経を同時に切断して、横隔膜に入る交感神経路を遮断すると、止みて再び横隔膜の律動的収縮が起って来るのを見て、之を呼吸筋の収縮抑制性交感神経の証明簡法とした。本研究では気管の器械的刺戟によって起ると予想された「咳」が呼吸器自己の保護反射と思われる事情に鑑み、所謂「自己反射」ではないか、従って自律神経反射ではなからうかと想像して上記実験法に従い、気管の刺戟によって現われる横隔膜運動の変化が交感神経を切断後には起らなくなるかどうかを調べた。始めウレタン麻酔の家兎で試みたが麻酔の影響によるのか気管の器械的刺戟や化学的刺戟では実験的呼吸反射を起し得なかったので猫を用い、クロロホルム・エーテルで麻酔、横隔膜運動を描画せしめ、羽毛の尖端部を気管カニューレを通して気道に挿入し気管壁を器械的に刺戟すると、小時横隔膜運動の抑制された形（吸息抑制）が見られた。之は反復しても見られるが、両側交感神経を切った後では切断前と異り運動の振巾が減少した形になって来た。この切断前の横隔膜運動の変化は、気管に分布する自律神経性求心性神経の刺戟によって収縮抑制性交感神経を介して反射的に横隔膜収縮が抑制された形にあり、頸部交感神経切断後は此反射的抑制が起らなくなり、而して運動の振巾の小さくなるのは気管に分布する体制、神経刺激による呼吸中枢への影響によるものと思われる。

19. 戸谷真澄・勝田 稷（三重大生理）

迷走交感神経活動電圧の季節的動搖（第3報）

裏頸部迷走交感神経幹活動電圧 oscillogram と同幹に混入する 交感神経幹活動電圧 oscillogram とを照合考察するに冬季と夏季は春秋の候に較べ迷走交感神経活動電圧 oscillogram はともに起伏が少いが冬季のそれは 交感神経活動電圧 oscillogram とは余程相違し、盛夏の候のは交感神経の活動電圧 oscillogram に頗る酷似している。冬季に於ける迷走交感神経活動電圧 oscillogram には

第ⅠからⅣ波までの4波が観察されるが第Ⅲ波の時点に一致して交感神経活動電圧 oscillogram にも peak の出現が認められる。第Ⅳ波の時点には極めて小さいのが現われるか或はそれより多少遅れて弱勢な隆りが認められる。第Ⅲ波の時点に一致して認められる交感神経活動電圧は S-I 波である。春秋の候に於いては迷走交感神経活動電圧 oscillogram には多少の隆起を無視すれば5つの活動電圧波群を数えることが多いがそのうちの3番目と4番目の波の出現時点と交感神経の S-I, S-II 両波の出現時点は夫々略々一致している。3番目の波は2番目の波第Ⅱ波と相連接して第Ⅱ波が分離したかの様に現われることがある。春秋に迷走交感神経活動電圧 oscillogram の起伏が多いのは交感副交感兩種神経に相匹敵した偽作電圧の発現を来すと同時に兩種神経系の興奮伝導速度に喰い違いがあり夫々の活動電圧出現時点がずれて peaks の数を増すと考えられる。何れにするも迷走交感神経活動電圧 oscillogram の何所に該神経中を走る交感神経線維の A. P. が添加しているかは略々判知可能である。次に A.P. 存続日数を指標に室温に放置した場合の年間を通じての各神経線維の生体外剔出後生存期間の変動を検した結果は迷走交感神経幹の方が交感神経幹よりも存続は長いが両神経共に1月を最長とし12月から3月迄は生存期間長く、8月を最短として4月から11月迄は短いのが観察された。1月と8月との生存日数の間には平均して S-I 波10日内外、S-II 波7日内外、第Ⅰ～Ⅳ波何れも10日内外以上の差が認められた。

20. 村上長雄・平岡 馨・原 学 (三重大学生)

運動性蛋白尿に関する研究

Ⅰ) 運動性蛋白尿出現 一過性運動による一過性の蛋白尿 (35分自転車疾走で運動中著明ならず、休息20分間著明、後10分稍著明、後消失) (2) 長期間合宿練習等に於ける遷延性な出現 (北浜の成績より)。

Ⅱ) 運動時成起する 2, 3 の状態に於ける尿蛋白排泄経過 (実験動物家兎) (a) 全身 anoxia 5分間肺換気を抑制する。抑制中は蛋白尿 (-), 抑制解除後20分間著明な蛋白尿、後認めうる蛋白尿が持続的に出現する。(b) 筋 anoxia 15分間両側大腿部を結紮する。結紮中蛋白尿 (-) 結紮解除後認めうる

蛋白尿が持続的に出現し、20時間を経ても尙残存する場合がある。(c) Adrenalin 静注の影響 静注後5分間尿蛋白 (-) 後20分目迄著明約35分を界として消失する。

Ⅲ) 運動及び運動時成起する 2, 3 の状態の腎糸絨体濾過量腎血流量に及ぼす影響 運動時、全身 anoxia 時 Adrenalin 静注後5分間、何れも腎糸絨体濾過量は正常以下に減少、後5, 10, 15分と上昇、正常以上になり後恢復する。筋 anoxia では前者程の著変は認められない。腎血流量も類似の変化をなす傾向を示す。

Ⅳ) 蛋白出現の原因 (イ) 血漿蛋白に対する腎糸絨体濾過膜透過性の増大又は尿管再吸収量の減少。(ロ) 血漿蛋白濃度の上昇。(ハ) 腎糸絨体濾過量の増加。(ニ) 血漿蛋白より低分子の蛋白の血中出現 (ロ) 及び (ニ) は別に考慮する。

以上より [Ⅰ] の (1) は [Ⅱ] の (イ) の前半又は (c) 様の影響によるもので [Ⅳ] の (ロ) が主因ではないかと推測される。[Ⅰ] の (2) は [Ⅱ] の (a) の後半又は (b) 様の影響によるもので [Ⅳ] の (ハ) が主因でないかと考えられる。尙家兎で両側腎動脈5分間結紮で結紮中尿蛋白 (-) 解除後約60分間認められ後消失する。一方腎自体の anoxia の度合はより軽度と考えられる [Ⅱ] の (a) (b) でより長時間の蛋白尿が見られることより [Ⅳ] の (ハ) の原因として腎自体の anoxia もあげうるが、腎以外の組織の anoxia より蛋白尿発現物質とも云うべきものが産生される可能性があり、検討中である。

21. 榎本 巖・西川喜方・木村英一 (大阪市大生理)

重層遠心分離法による骨髓性細胞の純粋分離

骨髓性細胞の機能を究明するために第1着手として、その遊離細胞の純粋分離を試み、形態学的に大きさの異なる数種の細胞を殆んど純粋に分離し得た。

方法は、さきに全血中よりの白血球純粋分離に成功した重層遠心分離法を応用した。

材料は家兎の赤色髓を用いた。先ず骨髓組織を予め用意した3.8%枸橼酸ソーダ溶液中に投じ、2枚のスライドガラスを用いて骨髓組織をすりつぶし、均等な浮游液を作る。更に此の液に生理的食塩水を加えて稀釈し、局方ガーゼ3枚を重ねて濾過し、その濾液を骨髓性細胞分離の材料とする。

分離に用いる溶液は、日本薬局方アラビアゴム末に水を加え約50°C、20分間加温溶解後遠心分離、上清の比重を1.070に調整し、食塩を0.25%の割合に加える。この溶液は血球のヘマトクリット試験及び細胞の形態学的所見等により末梢血液及び骨髓性細胞と等浸透圧であることを確めた。この溶液を生理的食塩水で希釈し、重曹を加えてA液（比重1.058～1.063, pH=7.3）及びB液（比重1.053～1.055, pH=7.3）を調整する。

分離方法：10cc容遠沈管にA液約1.5ccをとり、その上にB液約2ccを静かに重層し、更にB液上に上記骨髓材料約2ccを重層し、3000 r. p. m. 10分間遠心分離すると、A液及びB液界面上に夫々白色の層を形成し、赤血球は管底に沈澱する。各液層の界面部分を採り検鏡するとA液界面上には比較的小さい細胞が、B液界面上には顆粒を有する比較的大きい細胞が認められ、形態学的に異常を認めず、ノイトラール赤の超生体染色で赤く染まる。今後更に運動性、呼吸等を測定して、分離した細胞が果して生きているか、又は生理的な状態であるかを検したい。

22. 曾我美勝・井上康夫（京大第2生理）

高分子の新微量分析法（塩析滴定法）

塩析滴定及びAgarographyなる新しい蛋白質其他高分子の分析法を発見しその原理的問題は昨年の蛋白質シンポジウムに発表した。

塩析滴定法は低濃度の蛋白質溶液を飽和硫酸アンモン溶液で滴定し体積補正をした後「ニゴリ度」の変化を確率紙等と組合せて、例えば人血清は12のFractionよりなることを求め得た。

此の方法の利点は非常に低濃度で再現性をもってこまかくFractionの数を求め得ると同時に、Gauss分布を為すSolubility curveのparameterを容易に求め得る。

Agarographyは10%アルコール溶液内に硫酸アンモンの濃度勾配を作り此の中に均一に蛋白をとかした寒天の板をつけると上記の塩析滴定を連続的に行ったと同等である。次に濃度勾配のある所に寒天の板をつけた後3～4時間後取出し飽和硫酸アンモン中につけると、大きなFractionの数だけ帯状の「シマ」が出来る。

此のAgarographyの最大の利点は殆んど装置なくて電気泳動図程度のFractionの数を求める点

にある。

現在、塩析滴定法により(I)原形質高分子をFractionateして核酸、リポイド等の分布を調べ、且つ各Fractionの物理的常数を測定する。(II)抗体が作られる時4ケのFractionのある γ -globulinに相当した所で最初にどのFractionがふえるかと云った問題を行う予定である。

23. 広田猛夫（京大第2生理）

唾腺細胞核の平衡液に対する挙動

塩、低分子有機物を含む水を主溶媒とする膠質複合体を生活体の基本モデルと取るという主張が生活基本小体論の中心アイデアである。

細胞はこうした原基的小体の巨大な複合体である核はその中に独立相として分離しているその分化は分数核、囊胚核、仁又は染色体を有する核等種々あるがここでは分化の程度の最も高い猩々蟬前蛹期唾腺細胞核を用い20倍位相差顕微鏡D.NIを用いて観察した。

核物質としてはLipidはContaminant'51（広田高浪）Residual materialは酸、塩基分別法の残渣である'51（広田、高浪）。従ってD.N.A. P.N.A + Basic Proteinを各pH塩濃度等について合成して得られる対照モデル（'50広田）と核の該条件に対する挙動との対比を行なえばよろしい。

平衡液には不活性な膠質の一定量を附加する必要がある（'53）。此をpH、塩濃度、D.E.K., 非電解質の条件規定をして夫々の観察をした。

細胞核はその構成物質間のInteraction Potentialに応じて線状、絮状、滴状、細滴状と変化する（そのfactorはinteraction potential ρ と重合度 M^n の積で与えられる）諸相が重複分布したものとすることが出来る。そして独立相形成の理由はそのfactorも ρM^n が一定値を超えたとき与えられるimmiscibilityによっていると考えられる。

此れによってpH, D.E.K., Salt conc., glucose, 及びそのcenibinationを核について実験的にmodelとの対応を求めて見た結果より対応が得られることを知った。従って膠質複合系の物理的構成を求めて形態学的観察のbaseとすることが出来るであろう。

此は固定条件等を知る為にも役立つものである事も当然で既に2,3の報告がしてある。

24. 山辺 茂・浜口保幸 (阪大第1生理)

生体作用物質とCu⁺⁺との相互交渉について(i) アミノ酸とCu⁺⁺との結合(ii) アスコルビン酸酸化酵素における蛋白質とCu⁺⁺との結合(iii) 化学療法剤とCu⁺⁺との相互交渉

I. Cu⁺⁺ (硫酸銅水溶液) の吸収帯はグリシンの影響をうける。結合型式は $2(\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\text{COO}^-) + \text{Cu}^{++} \rightarrow (\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-)_2\text{Cu}^{++} + 2\text{H}^+$ と考えられるが高濃度のグリシン結合も可能である。ヒスチジンの影響はイミダゾール環ことに $=\text{N}^+\text{H}-$ が H^+ を出して、Cu⁺⁺ と結合するために、グリシンより著しく強い。尚ヒスチジンの影響はヒスタミン及び抗ヒスタミン剤と拮抗する。

かかるCu⁺⁺-アミノ酸結合は溶媒の透電恒数の低下 (50% エタノール水を用いることにより47に下げた) につれて影響をうけるが、そのうけ方はグリシンの方がヒスチジンより強い。

II. 化学療法剤の紫外部吸収スペクトルはCu⁺⁺ と相互交渉することによって結合部位に対応する吸収帯が変化する。ズルフォニアミドはCu⁺⁺ の影響弱く、パスはサリチル酸部分によってCu⁺⁺ と結合することが考えられる。

25. 岩坪源洋・亘 弘 (阪大第1生理)

グルタミン酸脱水素酵素における活性中心の数について

酵素蛋白のSH基が基質のどの基と関係するかは未だ充分に明かでない。我々はグルタミン酸脱水素酵素の場合、基質のアミノ基が関係することを略々明かにした。この部分は酸化還元を行う所である故、酵素のSH基との間に何等かの結合が存在するものだろう。

又、活性中心1つについてSH基1個が関与することは既にKineticsにより証明しているの、酵素蛋白1分子について活性中心が16~17個なることを証明した。

分子量100万のこの酵素蛋白について、この様に多数の活性中心が存在することから、この酵素はいくつかのSubunitの集合ではないかと考えられる。

26. 三木国典・松下 宏 (和歌山医大生理)

λファージの増殖に及ぼすChloramphenicolの影響

影響

蛋白質合成に対して著しく阻害作用を示すChloramphenicolを用いて、溶原性大腸菌K12(λ)における誘発後のファージ成熟過程に及ぼす影響を観察して次の結果を得た。

ペプトン葡萄糖培地でのλファージ成熟は、5~10μg/mlのChloramphenicolで抑制される。これはK12(λ)株の蛋白質合成阻害の最少濃度、及び、最少菌発育抑制濃度に一致する。対数期にある大腸菌K12(λ)のDNA合成能は、Chloramphenicolによって可成りの抑制作用をこうむる事を認めた。然し蛋白質合成を完全に抑制せしめる濃度でも、なお、40%位は残存する。これに反して、紫外線誘発後のファージDNA合成能は5~10μg/ml以上のChloramphenicolの濃度では、蛋白質合成のそれと殆んど同様に、完全に阻害される。紫外線誘発後、30分経過してから(この頃にファージDNAの合成が開始される)Chloramphenicolを加えれば、蛋白質合成は完全に阻害されるのにかかわらず、ファージDNA合成能は、可成りの程度に存続する。その抑制率は宿主菌体DNAのそれに近い値を示すようになる。

Chloramphenicolは潜伏期間中、如何なる時期に加えても、成熟ファージ生産を完全に抑制する。而してこの事実に基づき、細胞内成熟ファージの出現は増殖開始後40分であることを認めた。これはWeigle & Delbrück (1951)の成績と一致する。又50分以後の添加は潜伏期が延長することなく溶菌するのが認められた。Chloramphenicolの作用は稀釋によって可逆的にとり除くことが出来る。即ち誘発直後より45分までの間では、潜伏期は、Chloramphenicolの作用時間に等しく延長することが示された。そして紫外線照射直後でも潜伏期の延長はChloramphenicolの作用時間より短くない。Chloramphenicolの作用時間を20分とする時、burst sizeは潜伏期の途中で薬剤を添加すれば最も低い値を示し、著しい阻害作用が認められるのに反して、初期又は後期で作用した場合は、ほとんど減少することがなかった。

以上の結果に基づいて、λファージのDNA合成の酵素機構は、誘発後に少なくともその一部が必ず新生されなければならないこと、およびそれが誘発直後から直ちに開始されるであろうことを考察した。

27. 辻本 毅・山羽 格・吉田一雄 (和歌山医大生理)

助酵素ヌクレオチッドのイオン交換クロマトグラフィーによる分離

Co-enzyme II の採取のための豚肝粗抽出物、即ち肝の水抽出液をトリクロール醋酸で処理し、その中和液の醋酸第二水銀による沈降物をアセトンで溶して乾燥させたものに強塩基性陰イオン交換樹脂である Dowex1-x2 を適用し、誘出液として 0.1N 蟻酸-0.1N 蟻酸ソーダ (pH3.7) を用いて gradient elution により脱着させた。

分離物質を hydrosulfite 還元, glucose-6-phosphate による還元, paper chromatography 等により固定した。

脱着順位は Co-enzyme I, Flavine adenine dinucleotide, Co-enzyme II, Flavine mononucleotide であった。

28. 中馬一郎・辻井 圭 (奈良医大生理)

脳 ATPase と Ethylurethane の作用

第31回総会で ethylurethane (U) は脳 homogenate による oxidative phosphorylation を阻害すると述べた。この機作の解析及び一般に中枢神経組織に於ける energy transformation の過程に対する U の作用を検討するため以下の研究を行った。

方法：白鼠の 4% 全脳 0.25M sucrose homogenate を材料とし pH7.4, 38°C で ATP と反応させ、遊離される無機磷量を Fiske-Subbarow 法で定量した。

成績：まずイオンの作用を検討したが、Mg, Ca 共に賦活作用があるが (Mg-, Ca-ATPase), 前者の方が 2 倍近く活性が強く、至適濃度は Mg ; $8 \cdot 10^{-3}M$, Ca : $1.3 \cdot 10^{-3}M$ であった。又 Mg が共存する場合には Ca は常に阻害的であった。Na, K は夫々単独では作用を示さないが、Mg が共存するときは Na のみ促進作用を示した。Mg-ATPase の至適 pH は 7.6-8.0, Ca-ATPase のそれは 7.2-8.6 の間にあり、両酵素共 ATP の末端磷 2 ケを遊離させるが、長時間反応させると 3 ケ共遊離する。ADP は Ca, Mg のいずれか共存する場合にも ATP の約 70% の割合で分解されるが、pyro-phosphate は Mg の存在下に於いてのみ ATP の約 80% 位の割合で分解され、AMP, β -glycerophosphate はいずれの場合にも分解されなかった。U は Mg-, Ca-

ATPase のいずれをも阻害するが、後者に対する作用の方が強く、又阻害度は Mg, Ca の濃度により殆んど変化しない。阻害度と U 濃度の対数との間には直線関係が成立するがいずれの場合も或る濃度の点で屈曲点が見られる。NaF, PCMB も Mg-ATPase の方をより多く阻害し、阻害度と濃度の対数とは直線関係になるが、Ca-ATPase に対しては或る濃度範囲では sigmoid 曲線となる。EDTA は $10^{-4} \sim 10^{-3}M$ では Mg-ATPase を促進し、 $10^{-2}M$ 以上では阻害するが Ca-ATPase については阻害のみを示した。AMP, pyrophosphate, 2,4-dinitrophenol は両 ATPase に対し阻害作用を示さず、無機磷はやや促進の傾向を示した。これらの成績から脳 ATPase の作用及び U 其他阻害剤の作用機作を論じた。

29. 船木三郎・星本武男・雨森正高 (大阪医大生理)

ATP に依るコリンエステラーゼ生成の促進効果に就いて

吾々は神経に於ける興奮伝導機構研究の手段として電気的検索方法を用いて来たが、それらの電気的諸現象の考察と相俟って、神経の代謝特に其のエネルギーの供給源と見られるクレアチン磷酸・ATP・アセチルコリン (Ach) の諸問題に対して其の側面的な観察を行っている。其の研究の一端として ATP の作用によりコリンエステラーゼ (ChE) の生成が如何なる消長を示すかを追究した。即ち 1.5mg/kg の ATP-Na を家兎の耳静脈内に注射し、血球の特異的 ChE を測定した結果、其の対照に比し 30~45% の活性値の上昇を示した。

資料の作製には稲垣氏法により鉄クロロフェリンを以て血球より ChE を溶出せしめ、炭酸重曹緩衝液を以て、pH 7.4 基質濃度 0.005M/l 37.5°C の条件下に Warburg 検圧計を以て検圧測定した。尙これには光電比色計による Hestrin 氏変法を併用した。この実験の結果より観て、血液就中赤血球の特異的 ChE 量は ATP の作用に依り、著明に増大することが明かであり、吾々は ChE の生成と ATP との間に密接な関係があるのではないかと考えている。

30. 舟木 広 (京都府立医大生物理化)

血液カタラーゼ反応に関する基礎的事項

ここに血液カタラーゼ反応というのは血球浮游液または溶血液による過酸化水素接触分解反応の事である。血球浮游液によるカタラーゼ反応については関口の興味ある報告がある。私は血液カタラーゼ反応をその反応系の温度変化という立場からこれを追求し反応過程が一般に3つの段階—初期 initial stage, 定常 steady stage 及び抑制 retarded stage—からなることを明かにした。初期段階の継続時間は H_2O_2 の濃度に関係なく血液カタラーゼの濃度に大体逆比例する。定常段階は反応の主体であって H_2O_2 に関して一次である。この一次反応の速度定数は血球浮游液及び pH 6.8 の溶血液ではこれらの濃度に比例するが蒸留水溶血液 (Buffer を含まず) では濃度の 1.3 乗に比例する。初期状態, 定常状態では反応過程が

$\frac{dx}{dt} = k_1 ae^{-k_1 t} - Be^{-kt}$ で表わされ, 阻害段階では $\frac{dx}{dt} = k \frac{a-x}{\sqrt{t}}$ で表わされる。血球浮游液の場合には反応の末期にカタラーゼの活性度が増大したかの観を呈することがある。一度 H_2O_2 を作用させた血球は, 人の赤血球の場合 H_2O_2 分解力が増大していたがヒキガエル赤血球の場合 H_2O_2 分解力が甚しく減少していた。血球浮游液は一定温度 (40°C 以下) に放置しておいても自然失活は起らないが, 溶血液ではその活性度 (一次反応の速度定数 k_1) が減少して一定温度に放置する時間 t' との間に次の関係式が成立つ。

$\log k_1 = \epsilon \sqrt{t'} + \log K_1$ K_1 は $t' = 0$ なるときの activity である。| ϵ | は溶血液の濃度が小なるほど減少し両者の間に直線関係が認められる。また | ϵ | は温度とともに大となる。これらの関係を考慮して溶血液の場合の活性化エネルギーは 13.9kcal とする。血球浮游液の場合には 7.18kcal である。

31. 勝 仁・川口 カ・前田 勝・松尾 寛・小會根 淨・舟木 広 (京都府立医大生物理化)

血液カタラーゼ反応に及ぼす塩類, 界面活性剤及び抗生物質の影響

血液カタラーゼ反応に及ぼす塩類, 界面活性剤及び抗生物質の影響を反応速度熱解析法によってしらべた結果を得た。

血液を等張性磷酸緩衝液 (pH 6.8) で稀釈した一定濃度の赤血球浮游液によるカタラーゼ反応にお

いてこの等張性磷酸緩衝液の一部を等張性 NaCl または KCl, NaF, NaBr 溶液でおきかえて反応系に種々の濃度に NaCl または KCl, NaF, NaBr を添加しても一次反応の速度定数はほとんど変らない。等張性塩類溶液で洗滌した赤血球浮游液によるカタラーゼ反応において速度定数の大なるものから順に陰イオンについては $F' > Cl' > Br' > J'$, 陽イオンについては $K' > Na' > Li'$, $Mg'' > Ca'' > Ba''$ となっている。溶血液中に NaCl または KCl を添加しこれに H_2O_2 を混じた溶血カタラーゼ反応においては NaCl または KCl の濃度が増すにつれて反応は抑制される。この抑制は Na' , K' または Cl' のカタラーゼ分子への Gibbs 吸着によるものであって吸着集積された Na' , K' または Cl' が H_2O_2 のカタラーゼへの接触行路をはばむためと考えられる。 H_2O_2 中に NaCl または KCl を添加しこれを溶血液に混じた溶血カタラーゼ反応では, 反応の初期には抑制が認められない NaCl または KCl の濃度が大きくなると数分後に反応は著明に抑制される。この抑制は Na' , K' または Cl' の溶血カタラーゼ分子の吸着によると考えられるがこの吸着による抑制が現れる以前に溶血カタラーゼ反応はかなり進行する。溶血カタラーゼ反応に及ぼすイオン効果は反応速度定数の大なるものから順に陰イオンについて $Cl' > Br' > J' > F'$, 陽イオンについて $Na' > K' > Li'$ である。界面活性剤は溶血カタラーゼ反応に対しカチオン性, アニオン性, 非イオン性に拘らず反応速度を促進する。この促進は界面活性剤のある濃度で極大となりそれより稀薄または濃厚になるにつれて対照に近づく。この促進極大濃度で反応系の表面張力は極小値をとる。抗生物質 (ペニシリン, ストレプトマイシン, オーレオマイシン, テラマイシン, クロロマイセチン) のうちストレプトマイシン以外のものはすべて血液カタラーゼ反応を阻害するがストレプトマイシンのみは阻害しない。ストレプトマイシンにはカタラーゼの自然失活防止作用があるがその他の抗生物質には自然失活防止作用がない。

32. 井上五郎・小石秀夫・新山喜昭 (大阪市大家政学部)

蛋白異化ホルモンの蛋白代謝に及ぼす影響

1954年度生理学会に報告した testosterone の蛋白同化作用とは反対に, 蛋白異化促進に仿くホル

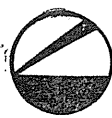
モン剤を用いてその蛋白代謝，殊にクレアチニン排泄量に及ぼす影響を検討した。

即ち，健康成年男子2名について1954年冬夏2回に亘り，一定食餌条件下で同一被検者に同一ホルモン投与実験を繰返えし行つた。1名には Thyroxin 製剤（帝国臓器，チラーヂン粉末，計1.8g内服）を，他には ACTH（Wilson 製，corticotropin，240～300mg 皮注）を用いた。基礎食餌は熱量約2300kcal，蛋白60gであった。

（Ⅰ）Thyroxin 投与 基礎食餌約4週間でN零平衡を確めた後 Thyroxin を投与した処，N排泄量は段階状に上昇，遂に約倍量に達し，その影響は投与中止後1週間維持し，この間N損失40.6gに至るが，3週間以後却って1時的にN蓄積が起り，その13.1gを回復する（通算蛋白損失約172g）。即ち著しい体内蛋白代謝亢進が推測されるが，之は

同時に測定した基礎代謝量に平行して亢進する（約40%増加）事からも裏書きされた。唯排泄N分層のうち，尿素は総Nに全く平行するが，アンモニアに変化なく，尿酸は僅かに上昇し亦我々が最も関心を持ったクレアチニン排泄量は540mg/日の正常値が投与3週間以後遂に478mg/日（-11%）のレベルに下り容易に回復しなかった。又少量乍らクレアチンの排出をも証明した。

（Ⅱ）ACTH 投与 1日80mg，3日間連続投与により，血液所見では赤，白血球数一時增多，好酸球数減少（200ヶ/mm³が50ヶまで減少）等を証明し，副腎皮質機能促進を覗かせたにも拘らず，尿N成分には著変が認められなかった。唯クレアチン排泄が少量ながら出現した。基礎代謝量も冬期実験では明らかに亢進したが，夏では変化がなかった。



Nihon Kogaku Gyo Kaisha, Ltd.

画期的な性能を誇る

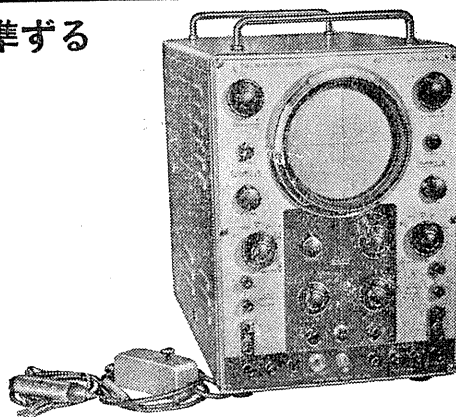
複合電子銃方式

二現象オシロスコープ

米国製 Dumont Type 322 に準ずる

画期的製品

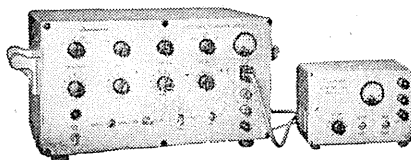
- 直流平衡増巾器自蔵（三段）
- X軸—200 kc 迄平坦
Y軸—500 kc 迄平坦
- 掃引周期：0.2~30,000 CPS
- 偏向感度：Dc 1 mv/1 mm
- 輝度変調可能（Z軸）



電子管刺戟装置

出力絶縁方式

- (特長)
1. 出力納縁回路 (Isolating Unit) が本体と分離され被刺戟体への誘導が殆どない。
 2. 感度治療器としても優秀な矩形波による感電治療器として使用出来る。
 3. 矩形波の振巾を自由に変調する事が出来る。
 4. 各諸元が直読出来る。



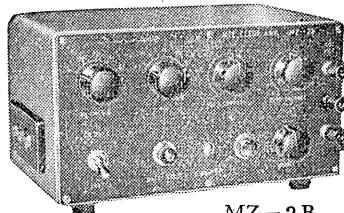
MSE-2

—説明書・カタログ送呈—

微細電極増幅器

特長及び性能

1. 入力格子電流が極めて少い ($5 \times 10^{-12} A$)
2. 入力インピーダンスが高い (100MΩ以上)
3. 波形の歪が少い
4. 入力電極に単位信号を重畳出来る
5. 入力電極抵抗格子電流測定可能
6. 電圧感度：本装置は当社製VC-5直結三段と組合せて使用
7. 微少信号の測定が出来る



MZ-2B

(注意) 本器は当社製二現象オシロスコープ（直結三段増巾器付）と組合せて使用する様設計されて居ます。

日本光電工業株式会社

東京都新宿区西落合2丁目514番地 TEL. (95) 2709 6156

主要製品



**バイシリン
ペニシリン
ホクエーラミザール
コートン
ハイドロコートン
オーレオスライシン**

(持続性二基ペニシリン)
 (各種ペニシリン製剤)
 (砒素酸梅毒剤)
 (米国メルク社製コートゾン)
 (米国メルク社製ハイドロコートゾン)
 (抗糸状菌性抗生物質)

(結核治療抗生物質)
 (ペニシリン・ストレプトマイシン合剤)
 (肝臓強化メチオニン製剤)
 (局所麻酔剤)
 (持続性局所麻酔剤)
 (強力駆虫薬)

**ジドロストマイシン
マイシリン
強バンチオニン
バンカイニン
ロニカイニン
パンパラジ**

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

精神科領域
に広い応用
分野をもつ

脳幹性催眠剤

国民医薬品集アモバルビタール。他のバルビツール酸系剤とは侵襲部位を異にするため 特異な心的効果をもっている。また近時クロルプロマジンなどとの併用によつて その応用分野はさらに拡大されようとしている。

不眠症 憂鬱症 神経衰弱症 ヒステリー 持続睡眠療法 精神病者の意志疏通性喚起 精神分析 精神的苦痛・不安・緊張の除去に。

国民医薬品集
アモバルビタール

イソミタール注射液



イソミタール

末=5g, 25g, 100g, 500g。錠=(0.1g) 10錠, 50錠。

イソミタールソーダ

注=(0.25g) 5A。(0.5g) 5A (各注射液用蒸留水付)。

京都市中京区壬生

日本新薬株式会社

東京・大阪・京都・札幌・富山・福岡

GIS 14

昭和三十一年八月二十日印刷

編集兼
発行人

戸塚武彦

印刷所

中村作右衛門
鶴岡印刷株式会社

発行所

日本生理学会

振替東京八六四三〇
 郵便 百四〇