

唾液の分泌とその酸塩基平衡 612.313.3

(第1報) 唾液腺の種類と唾液の酸塩基平衡

Excretion of Saliva and Its Acid-base Balance.
(Part 1) Comparison of Acid-base Balance of Saliva from Various
Sorts of Salivary Glands of Dogs and Human Subjects.

(本研究は文部省科学研究費(吉村教授)によってなされた)

(本論文の要旨は第6回近畿生理学談話会に於いて発表した)

森 隆 之 助 (MORI-Takanosuke) *

I. 緒 言

唾液の酸塩基平衡に関しては近時高岡¹⁾によって広汎なる研究が行われ、その結果これが唾液腺の機能と密接な関係のある事が明かにせられた。即ち彼によれば、唾液の pH はその重炭酸塩(アルカリ)濃度に支配せられ、且つその重炭酸塩の分泌は唾液腺細胞の興奮による能動的輸送に原因するものであって、唾液腺の興奮によって唾液の分泌量(水分)が増すと共に重炭酸塩濃度も亦高まり、その pH が上昇するという。併し乍ら、一般にこの膜の能動的輸送現象の機序については現在の所、如何なる腺に就いても全く不明であり、ただ胃腺や腎臓に就いては若干の仮説によってこれを説明しているに過ぎない。殊に唾液腺の分泌機序に就いてはその研究少く、ただ近時 Thaysen 等²⁾が唾液腺条紋部に於ける Na^+ の逆吸収機転を仮定して Na^+ の分泌を説明せんとしたり、又吉村教授³⁾が重炭酸塩の分泌を、腺細胞で産出せられた代謝性の炭酸の H^+ と、組織液中の Na^+ とが腺細胞の基底膜に於いて交換反応を行って NaHCO_3 を産出するとの意見を述べた程度に止っている。従って唾液腺の機能と、唾液の酸塩基平衡との関係を知ることは、生理学の基本的な問題にも触れた重要な研究課題であり、これを明らかにすることにより腺の機能的透過現象の本態究明に重要な手掛りが得られるであろう。そこで著者は、高岡とは異った立場から、今少しく詳し

くこの問題を掘下げて見度いど考えた。

研究はこれを二部に分ち、第一部に於いては唾液腺の種類別に夫々から分泌せられた唾液の酸塩基平衡を観察し、その腺の種類による差異を検討する事により、唾液分泌と酸塩基平衡との関係を細胞学的な見地より検討して見度いど考えた。即ち三大口腔腺の中、耳下腺は純漿液細胞よりなり、これに反し舌下腺顎下腺は漿液及び粘液細胞よりなる混合腺である事は周知の事柄であるが、その他に耳下腺はその排泄管中によく発達せる条紋部を持ち、顎下腺にも条紋部はあるが、舌下腺はこれを欠いている。従って、此等の各腺より分泌せられる唾液の酸塩基平衡と唾液腺との関係を究明する事によって、唾液の重炭酸塩分泌に与る腺細胞の種類の推定が可能となる筈である。この様な研究方法は、既に文献にも現われた事であって、H. Baxter⁴⁾は上記の三大唾液腺より分泌せられた唾液のイオン組成を検討した結果、唾液腺細胞の異なることによりイオンの透過性を異にすると結論し、Merkel⁵⁾も同様の検討を行った結果、唾液の水分は導管中の介在部により、無機塩は条紋部よりまた有機物は腺濾胞より分泌せられると考えた。併し一方 Werther⁶⁾は犬の副交感神経刺激や或は又ピロカルピン刺激を行った時の三唾液腺の唾液の成績に就いて検討し、条紋部を欠く舌下腺の NaCl 分泌が三腺中最も高いことより Merkel の所説に反対している。またこの条紋部の意義について最近 G. White 等⁷⁾は分泌腺の中、その排泄管中に条紋部を欠くものでは、

* 京都府立医科大学第1生理学教室(吉村寿人教授)

Na^+ と Cl^- の値は血液の夫に等しいか或は高く、反対に条紋部を有する分泌腺に於いては NaCl の値が血液よりも低い事から、この細胞が Na^+ や Cl^- を逆吸収する機能のある事を推測している。尙最近 Van-Goor⁸⁾ 等の研究によれば、唾液腺中に含まれる Carbonic anhydrase (以下 C. A. と略す) は、唾液腺の種類を異にする事により含有量を異にし、犬に就いては耳下腺が最も高く、次は顎下腺、最も少いのは舌下腺であると言う。又最近著者等⁹⁾ の行った実験によっても彼と同様の成績を得ているが、C. A. は胃の HCl 分泌や、腎臓に於ける細尿管の H^+ イオンと Na^+ イオンの交換に不可欠の酵素である事が知られているから、唾液腺の場合にも、そのアルカリ分泌に重要な意義を有する事は想像に難くない。

要するに、唾液腺の種類とその唾液の酸塩基平衡を細胞学的に検討することは、甚だ有意義なことであり、これによって唾液腺のアルカリ (NaHCO_3) 分泌の機転を一層深く追求する事が出来るであろう。

次に第二部の実験に於いて、著者は諸種の方法によって唾液腺を刺激し、ここに分泌せられる唾液の酸塩基平衡と、刺激の種類との関係を検討した。これは唾液腺の重碳酸塩分泌機転と腺興奮との関係を追求せんとしたものであるがこれについての成績は第二部に於いて述べる事にし、ここでは第一部の実験のみに就いて記載する。

II. 実験方法

検査に供した材料は総て人体及び犬の耳下腺と顎下、舌下腺唾液である。顎下腺と舌下腺とは、これを分離せずして両者の唾液を自然に混合したままで採集した (以後両者を合して言う場合には顎舌腺唾液と呼ぶ事にする)。此等の唾液採集は、予め耳下腺及び顎舌腺の永久瘻を同一犬に作成し、その開口部を口部皮膚 (耳下腺瘻孔は上口唇上部、顎舌腺は下顎下) に作る。そして硝子製の採集器を従来より用いられている接着剤 (コロフォニウム 100, 黄蠟 25, 酸

化鉄 40) を以って此処に接着し、それに 10cm 以下の細い硝子管を附し、これを試験管内に入れた流動パラフィン下に導いて、唾液を直接空気に触れる事なく採集した¹⁰⁾。人体に於いては早川氏唾管 (Krasnokowsky)¹¹⁾ を耳下腺導管の開口部に取付け、又顎舌腺唾液は、梅本・覚道式無菌唾液採集器¹²⁾ をその導管開口部に附し、唾液を夫々ゴム管で試験管内の流動パラフィン下に導き、無氣的に採集した。然しかくの如くに唾管、又は唾液瘻管をつけた丈では、唾液の分泌は不充分であるから、これを促進するために 1% 塩酸ピロカルピン液を皮下に注射した。注射量は、犬に於いては 0.05cc/kg, 人体では 0.015cc/kg である。かくして唾液はピロカルピン注射前より注射後約 50 分に渉る迄、普通は 10 分毎に夫々耳下腺及び顎舌腺より同時的に採集した。測定項目が多くて、しかも分泌量が不充分な場合には 20 分乃至 40 分間隔で採集した場合もある。なお実験中は出来る丈他の影響を避ける為に、食後少くとも 2~3 時間を経過し、且又検者以外の人の出入を一切禁じ、犬を固定箱に入れて行った。又唾液瘻管を作った犬は全部で 6 匹であるが、その内屢々用いたものは 4 匹であり、又人体の被検者は 2 名である。

さて上記の如くにして採集した唾液につき、主にその分泌速度、pH、総 CO_2 濃度、 Cl^- 濃度を測定したが、腺の種類による唾液の酸塩基平衡を検するに当っては、更に Na^+ 、 K^+ 等の無機塩類濃度をも併せ測定した。蓋し高岡が証明した様に、唾液の主要なるイオン組成は、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 HCO_3^- の 4 つよりなり、殊にその pH を左右する要因は重碳酸塩濃度であるから、上記の 4 つの成分を測定する事により、唾液の酸塩基平衡の大要を尽し得ると思われる。

その測定方法は pH は水素瓦斯電極法で 37°C の恒温槽中に於いて測定し¹³⁾、総 CO_2 濃度は斎藤式微量ガス定量法¹⁴⁾ を用いた。しかして此処に得た pH と総 CO_2 濃度より Henderson-Hasselbalch 式を用いて炭酸瓦斯分圧 Pco_2 を計算した。但しこの場合の pK' は松田¹⁵⁾ に従って 6.22 (37°C) とし、Bunsen の吸収率は $\alpha=0.545$

とした。つぎに Cl^- 濃度については Ruszniack 法¹⁶⁾にて測定した。 Na^+ , K^+ , などを測定の際には唾液を乾性灰化して、之を適宜に蒸留水で稀釈し、その稀釈液を用いた。 Na^+ は Uranium acetate を用いて Balter-Kolthoff 法に準じ、ただその Zn の代りに Mg 塩を用いて測定した¹⁷⁾。 K^+ は Kramer Tisdall 法¹⁸⁾である。

Ⅲ. 実験成績

実験は先ず人体及び犬に就いてピロカルピンを注射し、耳下腺及び顎舌腺より連続的に採集した唾液に就き pH, 総 CO_2 濃度, 及び Cl^- 濃度を測定して、唾液分泌の経過と、その酸塩基平衡との関係を検討した。而して次にこの資料

より、各種の腺別の唾液組成を唾液分泌速度との関連に於いて比較検討した。それは既に高岡が明かにした様に、唾液の組成は可成りに強く分泌速度の影響を受けるものであるから、この影響を除かない限り各腺別の唾液組成の比較は困難であると考えたからである。

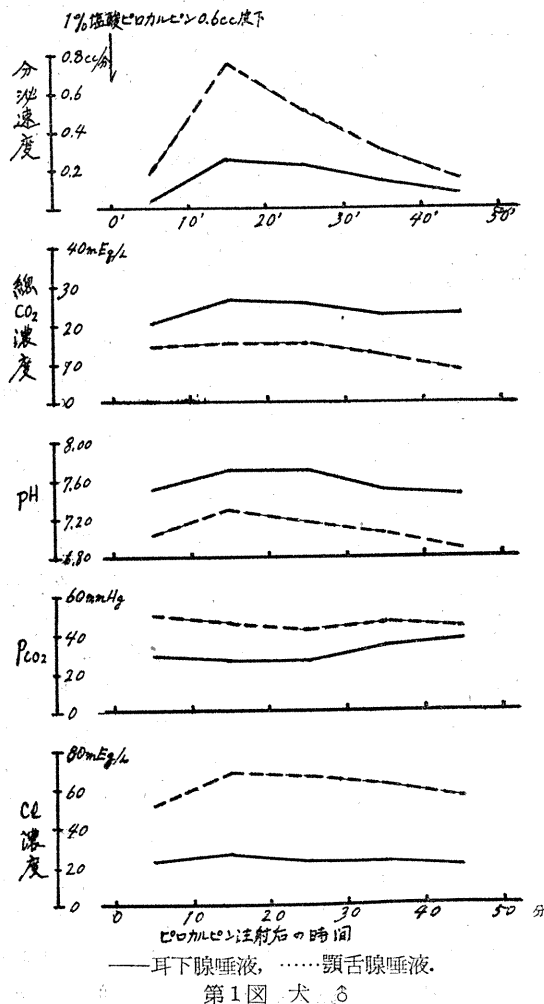
1) 唾液の分泌速度とその酸塩基平衡

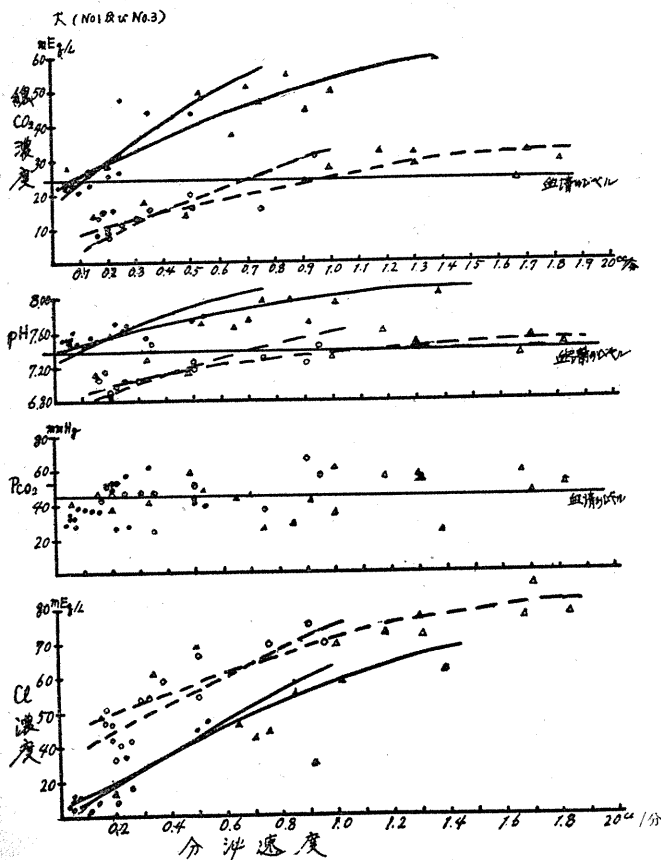
[第1図] は犬に就いてピロカルピンを注射し、耳下腺唾液と顎舌腺唾液とを同時に採集して時間を追ってその経過を観察した成績の1例である(採唾時間の中央に測定点をとる)。

唾液の採集は注射後10分間隔で行った。注射前には唾液量が僅少なる為充分な量を採集する事が出来なかった。図中実線で示したのは耳下腺唾液であり、一方破線で表したのは顎舌腺唾液である。先ず分泌速度の時間的増減に就いて見ると、これは耳下腺顎舌腺共に注射後約10~20分目で最高となり、後漸次下降を示して約50分目で大体旧に復している。ピロカルピン刺激唾液に於ける成績では何れの場合に於いても本例と略同様であって、最高値は注射後10~30分目で現われる。

次に分泌速度を腺別に比較するに、分泌の当初より耳下腺唾液の方が顎舌腺唾液の夫よりも低い値を示し、時間の経過とともに顎舌腺唾液の分泌速度は著明に上昇し、その差が大きくなる。而して分泌速度の最高値の附近では顎舌腺の分泌速度は耳下腺の夫の約2~3倍にも達するものがあった。又 pH, 総 CO_2 濃度は最初より耳下腺唾液の方が非常に高く、反対に Pco_2 及び Cl^- 濃度に於いては耳下腺唾液は顎舌腺唾液よりも低い。他の4匹の犬の成績に就いても大体の傾向は同様であったが、その内には耳下腺唾液と顎舌腺唾液の Cl^- 濃度の差が他の犬に較べて僅少であるものもあった。

次に図に於いて pH, 総 CO_2 濃度, Pco_2 及び Cl^- 濃度と分泌速度との関係を見ると、 Pco_2 以外の値は何れも可成りよく分泌速度と併行して増減しているのが見られる。其処でこの関係を明確に知る為、分泌速度と夫々の値との相関関係を図に示して見ると第2図が得られた。但





第2図 唾液分泌速度と各成分濃度との相関々係図
各腺は夫々犬別、腺別に見測して引いた傾向線。
実線は耳下腺、点線は顎舌腺。

しこの図は2匹の犬に就いて前記と同様の実験を夫々2~3回宛行った成績を全部まとめたものである。図の横軸は分泌速度であり、縦軸は夫々pH、総CO₂濃度、Pco₂及びCl⁻濃度であるが、Pco₂を除き何れの場合に於いても分泌速度が高まるにつれてその値が高まっている。そして分泌速度が更に高まって来ると、これ等の値は漸次一定の値に近付かんとする傾向がある。このことは既にThaysen²⁾等が人体耳下腺唾液の重炭酸塩の分泌について証明した所である。著者の成績によって、犬の耳下腺や顎舌腺唾液にもHCO₃⁻のみならず又pH、Cl⁻に就いても同様の傾向を認め得る事が明かになった訳である。

図中に引いた水平線は、多くの犬に就いて著

者の求めた夫々の成分の血清中の濃度の平均値である。顎舌腺唾液に就いては総CO₂濃度、pHの最高値は血清値に近いものであるが、耳下腺唾液では遙かにこれを凌駕している(総CO₂濃度に於いて、耳下腺唾液の方が顎舌腺唾液の夫の2倍以上も高い)。又Pco₂は耳下腺唾液、顎舌腺唾液の何れに就いても分泌速度と無関係であって、顎舌腺唾液は血清Pco₂(静脈血)附近の値を、耳下腺唾液はそれより少々低い値を示した。

今この値に就いて夫々の分泌速度との相関比を求めて見ると第1表の成績が得られる。但し此処では実験した6匹の犬の成績全部に就いて計算を行った。此処に見る如くpH、総CO₂濃度及びCl⁻濃度の何れの場合に於いても相関比は殆んど例に於いて0.7以上の相当に高い値を示し、且つ何れも推計学的に有意である¹⁹⁾。ただPco₂に於いては相関比は0.125~0.597であって、推計学的にも無意であった。而して犬が異れば相関関係は多少違っているが、

成績の傾向は何れの犬でも同様である。

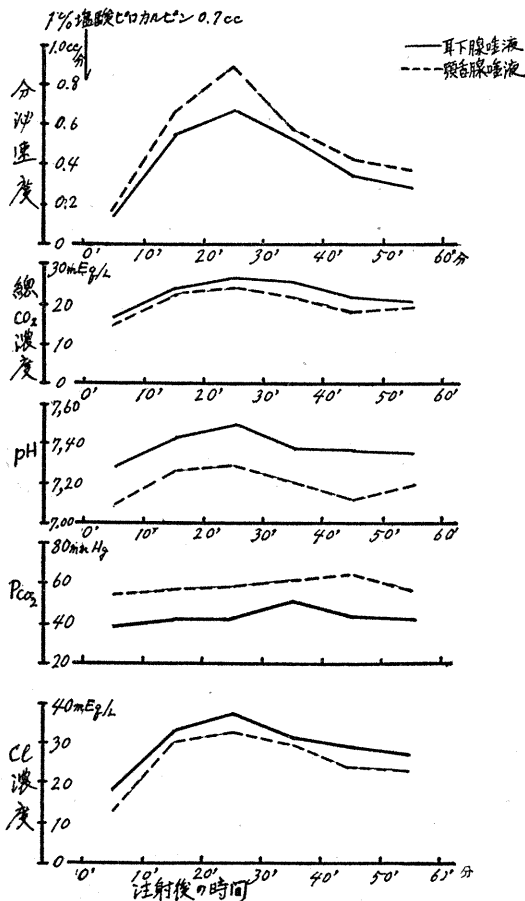
次に人体に就いて行ったピロカルピン試験の成績の1例は第3図に示されている。図示の如く、分泌速度は耳下腺、顎舌腺共にピロカルピン注射後約30分にして最高に達し、その後漸次下降するが唾液pH、総CO₂濃度及びCl⁻濃度も亦これと略同様の経過を取っている。其処で犬の場合と同様に分泌速度と此等の諸成績との相関図を作ると第4図が得られる。但し人体の場合には個人が異れば相関関係が可成り相違して来るから、此処には簡明のために1人の被検者の成績のみを示す事にした。図示の如く人体の場合に於いてもpHや総CO₂濃度及びCl⁻濃度が分泌速度と共に変化しているが、Pco₂はそれとは無関係に略一定である。而してpH

第1表 唾液分泌速度と組成との相関比
(犬)

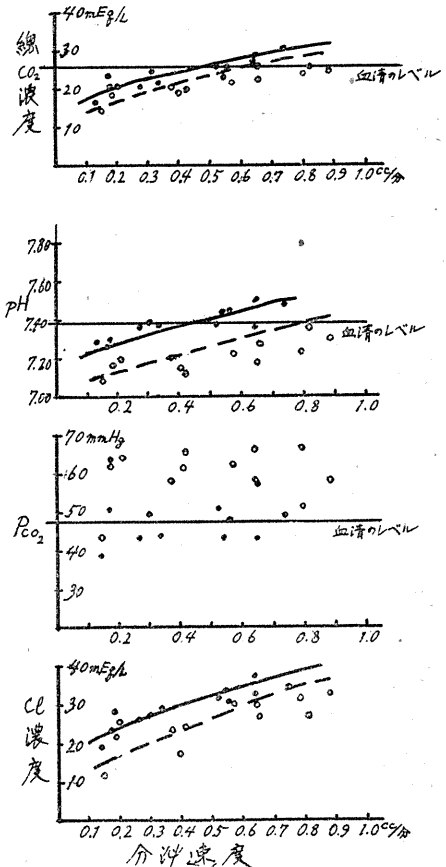
項目\犬番号	耳下腺唾液							顎舌腺唾液						
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	平均	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	平均
pH	**	*	*	*	*	*	0.822	*	*	*	*	*	*	0.788
総 CO ₂ 濃度	**	**	*	*	*	*	0.853	**	**	*	*	*	*	0.817
PCO ₂	0.327	0.285	0.597	0.130	0.375	0.276	0.331	0.308	0.334	0.054	0.538	0.268	0.125	0.271
Cl 濃度	**	**	*	*	*	*	0.863	**	*	*	*	*	*	0.821
	0.895	0.938	0.926	0.920	0.666	0.833		0.926	0.783	0.823	0.809	0.802	0.768	

(人体)				
項目\被検者	耳下腺唾液		顎舌腺唾液	
	T. C.	T. M.	T. C.	T. M.
pH	**	**	*	**
総 CO ₂ 濃度	0.801	0.899	0.897	0.779
PCO ₂	0.244	0.349	0.461	0.419
Cl 濃度	*	**	*	*
	0.754	0.774	0.773	0.852

備考 表中 *, **で表したのは夫々危険率 5%, 1% 以下で有意性のある事を示す。



第3図 人体 (T. C. 例)



第4図 人体 (T. C. 例) 唾液分泌速度と各成分濃度の相関係図
各線は腺別に引いた傾向線である。
実線は耳下腺唾液 (・), 点線は顎舌腺唾液 (○)。

や総 CO₂ 濃度と分泌速度との間の相関比も犬と同様に 0.7 以上であって、何れも推計学的に有意である¹⁹⁾ (第1表参照) が、PCO₂ の相関比は無意である。其他血清濃度との関係等すべて既に高岡¹⁾ が報告せる所によく一致している。又犬と同様に pH, 総 CO₂ 濃度及び Cl⁻ 濃度は、その分泌速度の高い範囲に於いては略一定の値に近付かんとする傾向のあることは興味深い。

其の他何れ後で述べる事であるが、人体に就いての耳下腺唾液と顎舌腺唾液の成分濃度は犬の夫と可成りの差があり、又各組成相互の関係も犬の場合とは異なることに注意を要する。例えば、第2及び4図に示す如く、唾液の分泌速度、pH、総 CO_2 濃度及び Pco_2 の腺別差異は人体も犬も定性的には同様であるが、ただ Cl^- 濃度は犬とは反対に耳下腺唾液の方が顎舌腺唾液よりも高い。

2) 唾液腺の種類と唾液の酸塩基平衡

以上の成績に於いて、人体、犬共に耳下腺唾液と顎舌腺唾液は、その分泌速度、pH、総 CO_2 濃度、 Pco_2 及び Cl^- 濃度が相異っている事が見受けられるが、同時に此等の内、pH、総 CO_2 濃度、 Cl^- 濃度は各腺共に分泌速度と可成り良好な相関関係を有している事が解った。従って各腺別の諸成分濃度の差を検討せんが為には、此等分泌速度の影響を除いて観察しなければならない。

其処で先ず犬に就いて、耳下腺と顎舌腺唾液の分泌速度の差を要因分析法にて検討するに第2表に見る如く、これは人体、犬共に有意の差

を示す。次に pH、総 CO_2 濃度及び Cl^- 濃度に就いて、その分泌速度の差の影響を除いた場合の腺別の差異を相関分析法によりまた Pco_2 の腺別差異は単なる要因分析法により検定して見た。その結果は第2表に見る如く、何れも推計学的に有意の差を証明する事が出来る。即ち分泌速度に於いては顎舌腺唾液は耳下腺唾液よりも一般に高く、pH、総 CO_2 濃度は耳下腺唾液の方が高く、又 Cl^- 濃度は顎舌腺唾液の方が高い。又 Pco_2 は一般的に顎舌腺唾液の方が耳下腺唾液よりも高くなっている。

次に人体の唾液に就いても同様の腺別比較を第2表によって行て見ると、分泌速度、pH、総 CO_2 濃度 Pco_2 に就いては犬の場合と同様の腺別差異を示し、分泌速度は顎舌腺の方が高く、反対に pH、総 CO_2 濃度は耳下腺唾液の方が高くなっている。併し Cl^- 濃度は犬の場合と異って、耳下腺唾液の方が高い。又一般に人体の唾液の場合には、この腺別差異が犬の場合程には顕著ではなく、比較的差が少い傾向が見られる。もっとも Pco_2 の腺別差異は犬の場合も人体の場合も共に差は僅かである。

第2表 唾液腺別成分濃度比較表

測定項目	動物の種類及び種	犬 (6例)					人体 (2例)				
		延実験回数	耳下腺	顎舌腺	実験値の差の平均	腺別差異の検定 (Fs)	延実験回数	耳下腺	顎舌腺	実験値の差の平均	腺別差異の検定 (Fs)
分泌速度 cc/min		15	0.03~1.41	0.05~2.05	- 0.22	(36.5) **	5	0.05~0.78	0.07~0.94	- 0.08	(20.1) **
pH		15	7.31~8.09	7.05~7.80	+ 0.24	(10.3) **	5	7.10~7.69	6.91~7.51	+ 0.11	(308.5) **
Total CO_2 mE/L		15	22.5~55.6	10.5~37.6	+ 15.7	(44.0) **	5	10.2~28.0	8.5~25.4	+ 1.5	(7.2) **
PCO_2 mmHg		15	10.6~62.1	12.7~69.4	- 11.1	(256.8) **	5	17.1~63.4	16.8~66.4	- 7.1	(125.0) **
Cl^- mE/L		10	9.8~51.0	12.7~86.9	- 15.8	(154.1) **	5	25.9~42.6	16.1~39.8	+ 5.9	(9.2) *

- 備考 1) 実験は2人の被検者と6匹の犬とに就いて行い、夫々の被検体に就き 2~3 回の実験を行った。
- 2) 唾液は人体、犬共に全てピロカルピン刺激唾液であって、刺激前より刺激後50分迄分劃採集した。この各時間別に採集した耳下腺及び顎舌腺唾液に就いて、夫々の成績の差 (耳下腺値-顎舌腺値) を実験値の差と呼び、これを全実験経過の材料に就いて平均し、その平均値を算出した。
- 3) 分泌速度の腺別差異に就いては、夫々の実験値を各腺別、実験例別 (個体差を含む) の要因に就いて繰返しのある二元配置にて要因分析を行い、又 PCO_2 も分泌速度に関せず略一定であるので、同様の要因分析を行った。これに対し、pH、総 CO_2 濃度、及び Cl^- 濃度に就いては、分泌速度の影響を受ける為相関分析法を応用し分泌速度の影響を除いて腺別差異を検定した。
- 4) 以上の推計学的検討により、腺別差異が有意となったものは * (危険率5%以下) 又は** (危険率1%以下) を附して示した。() 内の数値は腺別変動の不偏分散と、誤差変動の不偏分散との比 (Fs) である¹⁹⁾。

其の他に人体の場合と犬の場合との差異として注目すべき事は、第一に耳下腺唾液の pH, 総 CO_2 濃度が、犬の方が人体に較べ遙かに高い事である。即ち第2図の pH と分泌速度との関係の図を第4図の犬に重ね合して観察したと考えて見ると、犬の耳下腺唾液の pH の曲線は明かに人体の犬よりも高い位置を示し、両者が相重なる事はない。この事は総 CO_2 濃度の曲線に就いても同様に犬の方が遙かに高い。併し乍ら顎舌腺唾液に就いては pH も総 CO_2 濃度も共に犬と人体とは同程度の高さの曲線を示し、大差のない事が明かである。

第二に Cl^- 濃度の場合に就いて同様の検討を行って見ると、耳下腺唾液、顎舌腺唾液ともに犬の方が高い。殊に顎舌腺唾液の差は顕著である。

第三に単位時間当り分泌量 (分泌速度) が第2表や第1~4図に明らかな如く、犬の方が人体の2倍近く多いことである。但し此等の人体と犬との比較に於いて注意すべきは、ピロカルピン注射量が人では1%塩酸ピロカルピンを0.015cc/kg の割合に与えられてあるに対し、犬は0.05cc/kg を注射しているから実験条件が両者の間で可成り異っている。この事は両者の差の原因を検討する際に、常に考慮しなければならぬ。

IV. 考 按

以上著者の成績を要約すれば大凡次の如くなる。

1) 人体、犬共に唾液の pH, 総 CO_2 濃度, Cl^- 濃度はともに分泌速度と密接な関係があるが、 Pco_2 は余り関係なく略一定値を中心に変動する。

2) この様な分泌速度は耳下腺に比し顎舌腺の方が高い値を示し、これは人体でも犬でも同様であるが、犬の場合には差が顕著である。

3) 人体、犬共に総 CO_2 濃度や pH は耳下腺唾液の方が高く、殊に犬に於いて差は著明であって、何れもその分泌速度の旺んな場合には血清の犬を凌駕している。併し Pco_2 は顎舌腺唾

液の方がやや耳下腺唾液よりも高い傾向にあり且その値は血清の値を上下する程度である。

4) Cl^- 濃度に就いては、人体では耳下腺唾液の方が高く、逆に犬では顎舌腺唾液の方が高い。但し此等の値は何れも血清 Cl^- 濃度に比して遙かに低い。

5) 人体と犬とを比較すると、耳下腺唾液、顎舌腺唾液共にその分泌速度が犬の方が遙かに高い。又耳下腺唾液に就いては pH, 総 CO_2 濃度, Cl^- 濃度共に犬の方が人体の犬を凌駕している。顎舌腺唾液に就いては pH や総 CO_2 濃度は、人体、犬に大差はないが、 Cl^- 濃度は犬の方が遙かに高くなっている。

以上の事実に対して直ちに考えられる事は、唾液成分の相互関係は、耳下腺と顎舌腺とでその考えを別にしなければならない事、又此等の関係は人体と犬とに於いて相似ているけれ共、詳しく見ると可成りの差のある事等である。其処で次に、この様な分泌速度や唾液組成の相互関係が、唾液腺の種類や動物の種類によって異なる理由が何によるかを考えて見る。

先ず人体唾液にも犬唾液に就いても共通な事項に就き考える。第一問題となるのは唾液の分泌速度であるが、これは人体、犬共に何時の場合にも顎舌腺唾液の方が高く、しかも組織 1g 当りの分泌量に換算しても、やはり顎舌腺の方が高い。第3表はその成績であって、唾液腺重量を測定した4匹の犬に就き、ピロカルピン注射後の各時間別のサンプルに就き、唾液腺のグラム当り分泌量を求め要因分析法¹⁹⁾によって腺別差異を検討すると、危険率1%で有意の差がある。これ等の点よりすれば、顎舌腺に於いては水分分泌が特に高いのではないかと考えられる。

次に人体並に犬の耳下腺唾液、顎舌腺唾液の何れの場合に於いても、総 CO_2 濃度と pH は常に平行的に分泌速度に伴って変化し、而もこの場合の Pco_2 は、分泌速度に無関係に略一定値に止まる。この事は既に高岡によって人体唾液に就き指摘せられた事実であって、高岡は更に人体唾液中には重炭酸塩の他に有力なる緩衝物質

第3表 人体及び犬の唾液分泌速度 (cc/g/min) の腺別比較
(1%塩酸ピロカルピンを人体にては0.015cc/kg, 犬にては0.05cc/kgの割合にて皮下注射)

犬 番号	\腺別 実験 回数	(犬) 耳 下 腺		顎 舌 腺		腺別差の平均 (cc/g/分)	腺別差異の 検定 (Fs)
		重量 (g)	分泌速度 (cc/g/分)	重量 (g)	分泌速度 (cc/g/分)		
1	5	5.8	0.005~0.093	5.4	0.022~0.176	- 0.008	(61.6) **
2	3	7.6	0.007~0.181	7.3	0.008~0.281	- 0.009	(30.6) **
3	3	5.7	0.016~0.247	6.3	0.017~0.275	- 0.004	(8.3) **
4	2	9.4	0.046~0.015	5.9	0.063~0.294	- 0.010	(20.8) **

被 検者	\腺別 実験 回数	(人体) 耳 下 腺		顎 舌 腺		腺別差の平均 (cc/g/分)	腺別差異の 検定 (Fs)
		重量 (g)	分泌速度 (cc/g/分)	重量 (g)	分泌速度 (cc/g/分)		
T.C.	2	30	0.006~0.024	19	0.008~0.043	- 0.002	(8.5) *
T.M.	3	30	0.012~0.026	19	0.003~0.046	- 0.002	(38.4) **

備考 1) 本表は第2表に準じて作成した。分泌量の腺別差異の平均値とは、同時に測定した耳下腺唾液と、顎舌腺唾液の分泌量の差の平均値であって、第2表の実験値の差の平均に相当し、耳下腺唾液より顎舌腺唾液の方が多い事が示されている。

2) 腺別差異の検定は繰返しのある二元配置法にて要因分析を行った。

3) 人体に於ける腺重量は、文献による臓器の平均重量を用いて計算した。

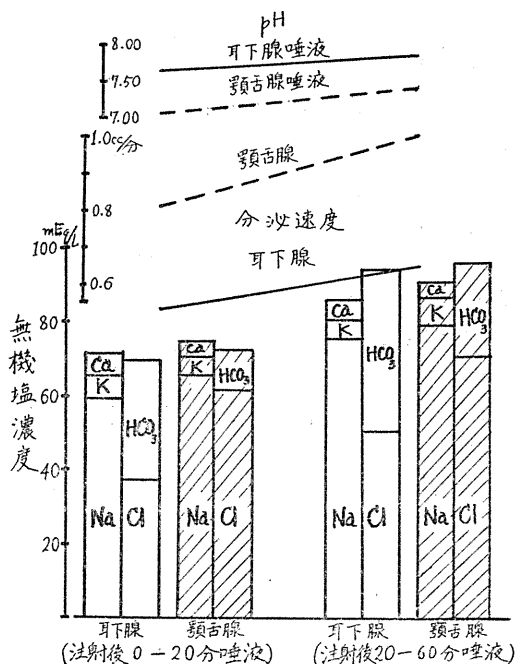
の無き事実を見て、唾液の pH は一にこの重炭酸塩の分泌量によって定まる事を明かにした。今回の実験に於いても、犬の唾液に就いてその陽イオン (Na^+ , K^+ , Ca^{++}) や陰イオン (HCO_3^- , Cl^-) を測定して、そのイオン組成のヒストグラムを作ってみると、第5図が得られる。但しこの中 Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{++} 等の無機塩類は完全解離するものと仮定し、且つ一方重炭酸塩濃度を求める為には、Henderson-Hasselbalch 式を用いて総 CO_2 濃度とその時の pH 値より $[\text{HCO}_3^-]$ 濃度を計算した。此処に見る如く、陽イオン総量と陰イオン総量は略一致し、且つ Na^+ , Cl^- , HCO_3^- がイオン組成の主要部を占める事が示されている (但しこの中 Ca^{++} 濃度は実測値ではなく、Babkin²⁰⁾の成績よりその平均値を求めて此処に引用した)。この中 NaCl は緩衝作用の無い中性塩であるから、結局犬唾液にも人体唾液の場合と同様に、重炭酸塩が唾液緩衝物質の主要なものであって、唾液 pH は重炭酸塩濃度によって定まるものと思われる。

斯様な重炭酸塩の分泌に関し、高岡は唾液分泌速度の高い時には唾液腺の中で重炭酸塩が産

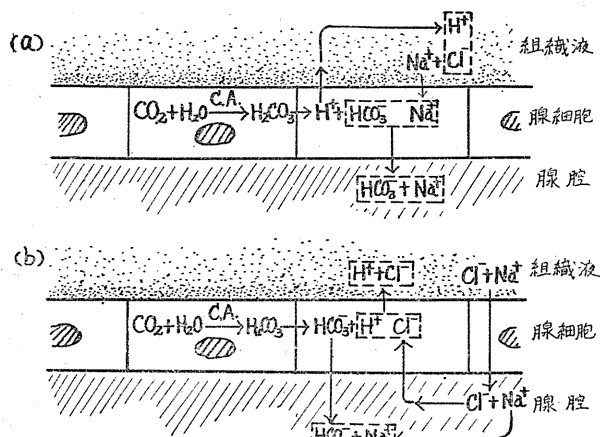
生せられる事実を明かにした。今回の実験に於いても、犬の耳下腺および顎舌腺唾液の何れもが、その分泌速度の高い時に重炭酸塩濃度が血清の夫を凌駕することより考えて、人体の場合と同様に、重炭酸塩の産生が行われているものと思われる。

この様な HCO_3^- の産生の機序に就いて、吉村教授は2つの考え方のある事を示唆せられた。即ちその1つは第6図(a)

に示す如く、腺細胞の基底膜に於いて、腺細胞の酸化現象に依って産出せられた H_2CO_3 の H^+



第5図 犬の耳下腺及び顎舌腺唾液のイオン組成 (犬 No. 3)



第6図 (a) 陽イオン交換及び (b) 陰イオン交換の模型図

と、組織液中の Na^+ が交換せられて腺細胞内に重炭酸曹達が生じ、これが腺腔へそのまま分泌されるという陽イオン交換仮説である。第二は第6図 (b) に示すように、全くこれとは逆の立場から、腺腔に一度分泌せられた NaCl の Cl^- と、細胞内 H_2CO_3 よりの HCO_3^- が腺腔に面した細胞膜に於いて陰イオン交換を行い、腺腔内にて重炭酸塩を生じると言う考えである。

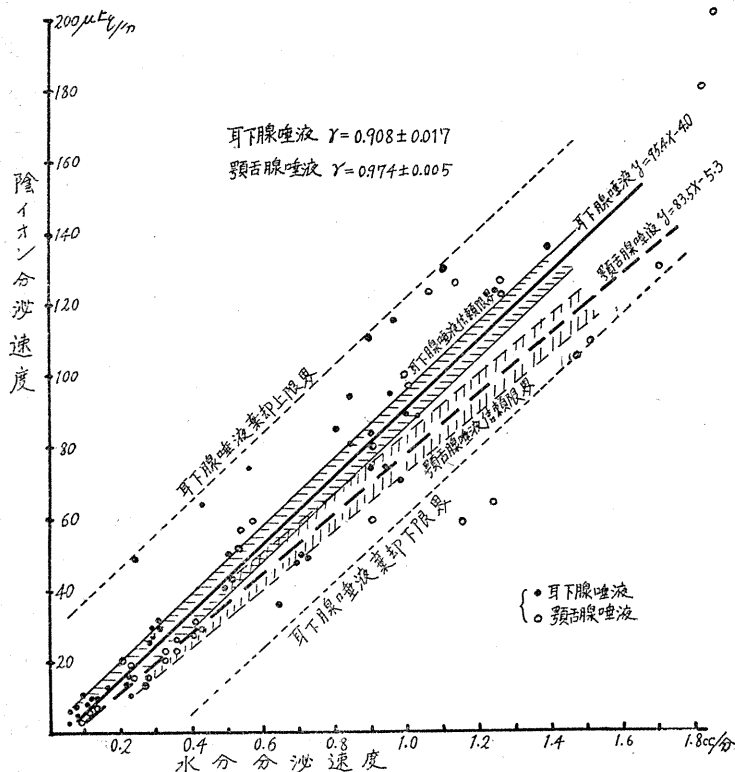
以上の内で、陽イオン交換の機転は腎の細尿管に於いて常に行われている事が証明せられているし、陰イオン交換は胃腺に於いて行われていることが明かにされている。唾液腺の場合には、何れが正しいかという事は勿論未だ明かではない。

其処で問題は、果してこの2つの仮説の何れによって著者の得た唾液の分泌速度と、唾液の重炭酸塩濃度の関係や、他の唾液成分との関係を合理的に説明し得るやという事である。この様な点になると、人体と犬とはその関係がやゝ異って来るから、次に動物別に検討を行う事にする。

先ず犬に就いて、唾液の総 CO_2 濃度 (又は $[\text{HCO}_3^-]$) と Cl 濃度及びその相互関係が、唾液腺の種類によって異なる理由に就き考える。前記の如く耳下腺唾液は顎舌腺唾液よりも総 CO_2 濃度 (大部分は $[\text{HCO}_3^-]$ に相当) が多く、 Cl 濃度が少ないのであるが、第5図に示す如く、重炭酸塩濃度と Cl 濃度とを合した総陰イオン濃

度は両者共に大差を見ない。このことは Na^+ , K^+ , Ca^+ の陽イオンの総和に就いても同様であり、又例数を重ねて実験をしても、大体同様の成績が得られる。其処で上記第3表の4匹の犬の耳下腺と顎舌腺に就き、 HCO_3^- と Cl^- の1分当りの分泌量の和 (陰イオン分泌総量) を求め、これと唾液水分 (唾液容積より求める) の分泌速度との関係を図に示すと第7図が得られる。黒点は耳下腺の1分当りの陰イオン分泌総量であり、白丸点は顎舌腺唾液の夫である。

図示の如く、両者ともにイオン分泌量と、唾液分泌量、即ち水分々泌量とは非常によき相関関係を示し、且耳下腺唾液に就いては $r=0.908 \pm 0.017$ であり、顎舌腺唾液に就いては $r=0.974 \pm 0.005$ である。今此等に就いて夫々の回帰線を求めて見ると、2つの唾液の回帰線は非常に相接している。ただ幾分顎舌腺の回帰線が低い傾向にあるが耳下腺唾液に関する回帰線の囲りの信頼限界²¹⁾を求めて見ると、顎舌腺の夫と殆んど相接し、且耳下腺唾液の回帰線の回りの棄却限界を引いて見ると顎舌腺唾液はその限界内に包含されて仕舞う。両回帰線の回帰係数も勿論有意の差を見出さない。陽イオン総量は、陰イオン総量と略等しいことを考えると、陽イオンの場合にも同様の事が言い得ると思われる。併し勿論此等の事より直ちに耳下腺唾液と顎舌腺唾液は、そのイオン分泌量が等しいと判断する事は出来ない。事実個々の犬に就いて陰イオンの総量と水分々泌量の関係を両腺唾液に就き比較すると相当の差があり、耳下腺唾液の方がやゝ高い。これは相関分析法によって水分分泌の影響や、個体差の影響を除いて比較しても、危険率1%を以て差異を証明する事が出来る。従って両唾液腺のイオン分泌量が常に相等しいとは言えない。併し乍ら以上の事からして、塩分の分泌総量は水分々泌量に略比例しているものであり、且この関係は両唾液腺に就きそれ程大きい差のないものである事は確かに言える。

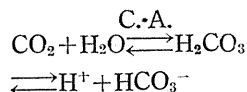


第7図 耳下腺及び顎舌腺の陰イオン ($\text{HCO}_3^- + \text{Cl}^-$) 分泌総量と水分々泌量との関係 (犬No. 1~No. 4)

其処で次に兩種唾液の $[\text{HCO}_3^-]$ と $[\text{Cl}^-]$ の相互関係を見るに第2図及び第5図に見るごとく、夫々相当大きな開きがあり顎舌腺唾液では $[\text{HCO}_3^-]$ が低くて $[\text{Cl}^-]$ が高く、耳下腺唾液では反対に $[\text{HCO}_3^-]$ が高くなりそれ丈 $[\text{Cl}^-]$ が減じている。

以上の関係を、さきの陽イオン交換説にて説明すれば、唾液腺の HCO_3^- 産生能と、 NaCl 分泌能が、耳下腺と顎舌腺とで異り、偶然にも両イオンの分泌能の和が2つの腺の間で等しくなり、且その総和は水分々泌量に平行すると考える他はない。然し陰イオン交換説よりすれば、両腺の NaCl 分泌能が略等しくただ耳下腺の方が Cl^- と HCO_3^- の交換による重碳酸塩生成能が顎舌腺よりも勝っている為に、 Cl^- と HCO_3^- の濃度の腺別差異を生ずると考えるのである。従って、陰イオン交換説の方が、陽イオン交換説よりも考え方が明快である。

- 次に耳下腺と顎舌腺に就いて Pco_2 を比較すると前者の方が後者よりもやゝ低い傾向が見られる。この事は、陽イオン交換説でも、陰イオン交換説でも、何れも HCO_3^- の産生が次の如き細胞の代謝によって生じた CO_2 の加水分解に依存している事より容易に説明し得る。但し此処に C. A. とは炭酸脱水酵素 Carbonic Anhydrase を意味する。

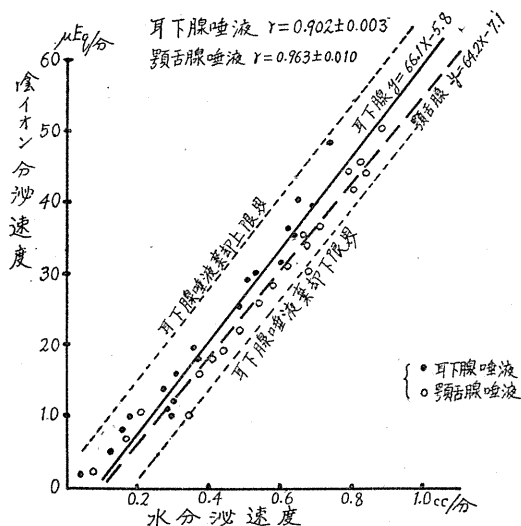


即ち HCO_3^- の産生が激しい時には反応は右に移行し、腺細胞内の遊離 CO_2 濃度が減少している。高岡によれば、細胞内の遊離 CO_2 は容易に拡散して唾液の夫と平行せんとするものであるから、 HCO_3^- の産生量が顎舌腺よりも多い

耳下腺では細胞内 CO_2 の減少の傾向が強くなり、従って唾液に移行する遊離 CO_2 濃度も平行して低くなるのである。而して此処に述べた CO_2 の加水反応を促進する C. A. は耳下腺には顎舌腺よりもこれが3倍近くも多く含まれている事実が、森、岩崎⁹⁾によって指摘されているが、この事は正しく耳下腺に HCO_3^- の産生量が多い事を裏付けしている。而して耳下腺の重碳酸塩分泌能は、顎舌腺の約2倍近く高いのであるから、その量的な比率迄も同じ位である事は興味深い。

次に人体に就いても犬と同様の検討を行って見る。先にも述べた様に、人体に於いては酸塩基成分の腺別差異は犬程には著明でないが、その傾向は犬と略同様である。ただ犬では顎舌腺唾液の方が耳下腺唾液よりも Cl^- 濃度が高いのに対し、人体では逆にやゝ低下している。

其処で先ず両腺の陰イオンの総分泌量 (HCO_3^-



第8図
耳下腺及び顎舌腺の陰イオン ($\text{HCO}_3^- + \text{Cl}^-$) 分泌
総量と水分分泌量との関係 (人体, T.C. 及び T.M 例)

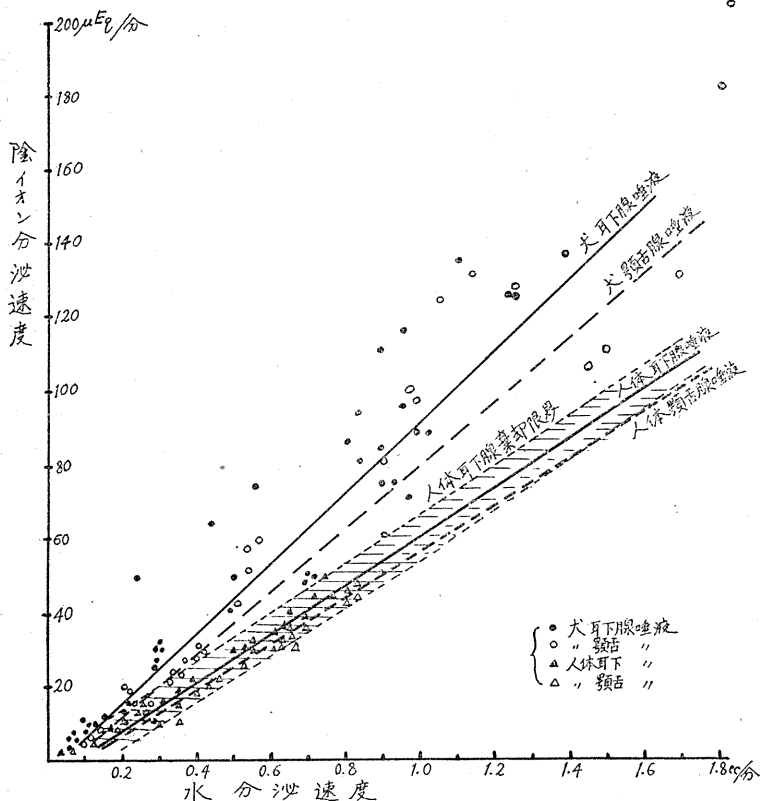
濃度と Cl^- 濃度の和) と、水分分泌量との相互関係を見ると、第8図に見る如く両者は共によき順相関を示している (相関係数は、耳下腺では $r=0.992 \pm 0.003$, 顎舌腺 $r=0.963 \pm 0.010$)、そして、全被検者に就いて、耳下腺に関する回帰線と顎舌腺に関するものと比較すると、推計学的に回帰係数の差は無く、且顎舌腺の回帰線は、耳下腺の囲りの棄却限界内に入っている。故に両者は殆んど一致していると考えてよい。ただ各被検者別に検討すると、両腺唾液の回帰係数が5%の危険率にて推計学的に有意義の差を示す。これ等の点は、犬の場合と同様であるが、ただ非常に異った点は、 Cl^- 濃度と HCO_3^- 濃度の相互関係である。即ち人体の唾液に就いては耳下腺唾液の Cl^- 濃度が顎舌腺よりも稍々高くなっている。つまり濃度としては HCO_3^- も Cl^- もともに顎舌腺唾液の方が低いのであるが、その差が共に少い為その総量としても大差はなく、総イオン分泌量を計算しても略一致する事となる。従って又 Cl^- と HCO_3^- の分泌の相互関係の説明に就いては、犬の場合の様に必ずしも陰イオン交換説の方がより明快であるとは言い得ない。即ちこの説を以て両種唾液のイオン組成の差を説明せんとすれば、耳下腺

の方が顎舌腺よりも水分分泌能に比較しての NaCl 分泌能が高く、又 HCO_3^- と Cl^- の交換能も高い。故に HCO_3^- 濃度も Cl^- 濃度も共に耳下腺唾液の方が顎舌腺唾液よりも高いと考えればよい。併し陽イオン交換説によれば、耳下腺の NaCl 分泌能が高いと同様に、陽イオン交換による HCO_3^- の産生能も又耳下腺に高いとすれば足りる。故にこの場合、何れの説が優っているかは判断がつかない。ただ何れの説にも共通な事は、腺によって水分分泌と NaCl の分泌の相互関係が若干異なる事を仮定しなければならない事である。

次に人体と犬との比較に於いて顕著に異なる点は、水分の分泌速度が犬の方が何れの腺に於いても高く、且つ水分分泌とイオン分泌の相互関係が違っている事である。この内、水分分泌速度が犬に於いて高い事は、人体と犬とでピロカルピンの注射量が異なるから、必ずしも腺の性質そのものの差異によるものではないかも知れない。併し第2報に述べるように、水分の分泌速度と塩分分泌速度の相互関係は、ピロカルピン量には左右されないことは明らかであるから、これは腺の機能の差によると考える可きであろう。即ち人体に就いて求めた唾液陰イオン総量 (HCO_3^- と Cl^- の分泌量の和) と、水分分泌量との関係図 (第8図) と、犬に就いて求めた図 (第7図) とを重ね合して見ると、第9図に見る如く、全く相離れた相関々係を示す事が明かである。試みに人体に就いての相関図に於いて、夫々の唾液に就いての回帰線の周囲にその棄却限界の線を引いて見ると、犬に就いての各点は、大部分棄却限界の上限界よりもはみ出して仕舞うのである。即ち人体と犬とに就いて、唾液腺の水分分泌と、イオン分泌の相互関係は違っている事が明かであって、犬の方が何れの腺に就いてもイオン分泌量が多いのである。

さて以上得られた成績を、更に細胞精築造学的に考察して見よう。

先ず唾液水分の分泌と塩分分泌の相互関係が腺の種類により、又動物により差のある理由に就いては、唾液腺の水分分泌と無機塩分泌に関



第9図 耳下腺及び顎舌腺の陰イオン (HCO_3^- + Cl^-) 分泌総量と水分
々泌量との相関々係の人体と犬との比較

係した部が異ると考えれば説明が付く。即ち各部の発達の程度が動物や腺の種類により異なるのである。Merkel⁵⁾は水の分泌は唾液腺の介在部にて、無機塩分泌は条紋部にて行われると考えたが、この説に就いては多くの疑義がある。即ち上記の成績第3表に於いても明かにしたように、組織 1g 当りの分泌速度は顎舌腺の方が高いのであるが、Babkin²⁰⁾、緒方等²²⁾によれば、介在部は耳下腺の方が発達している (第4表参照)。従って此の点に於いてMerkelの説は事実と反する。のみならず水や無機塩が夫々別々に介在部や条紋部で産生せられると考える事自体

第4表 腺条部の発達程度の動物別差異
(緒方教授による)

腺\動物		人	体	犬
耳	下	腺	+	+
顎	下	腺	+	+
舌	下	腺	+	-

組織標本に於ける発現頻度を以て示す。

が甚だ不自然である。即ち無機塩は水に溶解、又は水分を伴って移動するのが自然である。一方漿液細胞や粘液細胞等の腺底部は腺の主体をなすものであって、夫々酵素や粘液の産生を行う事は周知の事であるが、これを分泌するに当っては当然水の分泌を伴っている。又この水分は組織液に由来するものであるから、当然組織液に溶けた塩分、殊に NaCl がこれに伴って移動する事は想像に難くない。従ってむしろこの唾液分泌量 (又は水分量) が顎舌腺に高い理由は、かゝる腺底部が耳下腺よりも豊富であるか、又は分泌力が旺盛であるか何れかと考える方が妥当である様に思われる。

但し人と犬とに就いて 1g 当りの分泌量を比較すると、犬の方が遙に高いが (第3表)、これは前記の如くピロカルピン注射量が犬の方が多いため、これを以て腺組織の構造の差を論ずる事は出来ない。

次に腺底部の中で粘液細胞は多量のムチンを含み、その自由水の濃度は漿液細胞の分泌液よりも遙に低い事が想像せられるから、自由水に伴う可き塩分 (主として NaCl) の分泌は主として漿液細胞の分泌に帰す可きものであろう。従って水分々泌量に対する塩分の分泌の割合が、人体でも犬でも耳下腺に於いて若干高い傾向のあるのは漿液細胞の密度が耳下腺の方が顎舌腺よりも高い為であろう。又人体よりも犬の方が著明に高くなっている理由に就いては、犬唾液腺は人体の夫よりも漿液細胞に富んでいるか、又は水分々泌に対する塩分々泌の比率が犬の唾

液腺では人体の夫よりも高いか、何れかによるのであろう。又耳下腺の方が顎舌腺よりも介在部や条紋部がよく発達しているのであるから、これらの部も塩分の分泌に関係あるかも知れない。これ等に就いては現在の所何れの考えが正しいか判断の根拠が無い。

次に HCO_3^- の分泌に関しては Van-Goor⁸⁾ は、C. A. が漿液細胞にある事を推論しているから、もしそれが正しいならば、この部がその産生に当るのかも知れない。併し単に耳下腺の HCO_3^- 分泌能が、顎舌腺の夫を凌駕する事のみより推論するならば介在部や条紋部をも考える可きであらう。所が介在部はその細胞の構造が余りに簡単に過ぐるから、複雑なイオン交換機構を考えるにはむしろ条紋部が適している。又同一の漿液細胞に、 HCO_3^- の産生や、また水分および塩分の分泌能があると考えよりは、むしろこれを別々の部にあると考えた方が、 Cl^- や HCO_3^- の分泌能の相違を証明するのに便である。このような点より、著者は一応 HCO_3^- の産生は条紋部にあると考え度い。そうすれば犬の耳下腺唾液の HCO_3^- 濃度 (唾液分泌速度を一定として) が人体の夫を遙かに凌駕する理由も、犬の耳下腺に条紋部が特によく発達していると考えれば説明がつく。

又前記の如く、耳下腺は顎舌腺よりも塩分々泌能が高いにも不拘、犬に就いては Cl^- 濃度は反って顎舌腺より低くなるのも前記の如くこの部に於いて Cl^- と HCO_3^- の交換による HCO_3^- の生産が、耳下腺に於いてより激しいと考えれば説明がつく。

以上要するに、唾液の分泌は唾液腺の各部分の分泌機能の協同によって行われるものであって、その部の発達の程度の差によって、動物や唾液腺による唾液組成の差を生ずるものである。しかして本研究の成績より推論すれば、唾液の水分や塩分の分泌は腺底部が主として関係し、その中漿液細胞は水分と共に塩分殊に NaCl の分泌に関係するところが大きい。又条紋部は、 HCO_3^- の産生に与るものと思われる。但しこれは一応の推定に基くに過ぎず、その根拠に關

しては将来の研究に俟つ可き所が甚だ多い。又 HCO_3^- の産生の機転に就いては、陰イオン交換と陽イオン交換の2つの機序が考えられるが、本研究の成績に於いては陰イオン交換説の方がやや優れていると思われるふしがある。

V. 総 括

人体と犬の耳下腺および顎下腺、舌下腺唾液分泌をピロカルピン刺激により促進せしめ、その唾液の酸塩基平衡を夫々唾液分泌速度との関係に於いて検討し、これを腺別動物別に比較した。但し顎下腺、舌下腺の唾液はこれを合せて1つの採集管によって採集したから顎舌腺唾液と呼ぶ。成績の概要は次の如くである。

1) 人体、犬共に唾液 (耳下腺、顎舌腺) の pH, 総 CO_2 濃度, Cl^- 濃度は唾液 (水分) 分泌速度と密接な関係があり、概ね良好な順相関を示す。併し Pco_2 は分泌速度に関係なく略一定値を中心に変動する。

2) 唾液の Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- は、そのイオン組成の主要部を占め、その pH は主として重炭酸塩濃度によって定まると言う高岡の人体唾液に就いての学説は、犬の唾液に就いても当嵌る。

3) 唾液分泌速度を腺別に比較すると、顎舌腺の方が耳下腺よりも高い値を示す。これは人体に就いても犬に就いても同様であるが、犬の場合の方が差が顕著であり、且唾液腺の 1g 当り分泌量に換算しても依然顎舌腺の分泌量の方が高い。

4) 人体、犬共に総 CO_2 濃度や pH は、耳下腺唾液の方が顎舌腺唾液よりも有意に高く、殊に犬に於いては差は著明であって、何れもその分泌速度の旺んな場合には、血清の値を凌駕している。併し Pco_2 は顎舌腺唾液の方が、やや耳下腺唾液よりも高い傾向にあり、且その値は血清の夫を上下する程度である。

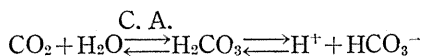
5) Cl^- 濃度に就いては、人体では耳下腺唾液の方が若干高く、逆に犬に於いては顎舌腺唾液の方が著明に高い。但し何れも血清 Cl^- 濃度よりも遙に低い。

6) Cl^- と HCO_3^- の濃度を合した総陰イオン濃度乃至はその1分当り分泌量を腺別に比較するに、犬では耳下腺唾液の方が顎舌腺唾液よりも幾分高い傾向にあるが、大きな差はない。人体の場合も同様である。

7) 人体と犬とに就いて比較するに、耳下腺唾液、顎舌腺唾液共にその分泌速度が犬の方が遙に高いが、これは犬の方がピロカルピン注射量が高かった事にも因る。但し同一の唾液分泌速度の場合に就いて、その塩分々泌量 (又は濃度) を比較すると、犬の唾液の方が一般に人体の夫よりも高い。即ち耳下腺に就いては pH, 総 CO_2 濃度, Cl^- 濃度, とともに犬の方が人体の夫を凌駕し、又顎舌腺唾液に就いては pH や総 CO_2 濃度は犬、人体共に大差はないが、 Cl^- 濃度は犬の方が遙に高い。

8) 以上の唾液組成や、その分泌速度の差異の原因を説明する為に、唾液塩分 (特に NaCl) 及び水分の分泌は主として唾液腺中の漿液細胞にて行われ、この分泌物が導管中の条紋部に來って HCO_3^- の一部を附加せられると仮定した。そして此等の部位の発達程度が腺の種類により、又動物によって異なる為、唾液の分泌速度や唾液酸塩基平衡の腺別、動物別差異を生ずると説明した。

9) 条紋部に於ける重炭酸塩成生の過程としては吉村教授に従って、細胞内に生じた代謝性の CO_2 が、次のごとく炭酸脱水酵素 C. A. の作用によって H_2CO_3 を生じ、これより生じた HCO_3^- が分泌せられると考えた。



10) この HCO_3^- がアルカリとして分泌せられる機転に関しては、条紋細胞と腺腔内容との間の陰イオン交換による過程と、条紋部細胞基底膜に於ける陽イオン交換の過程の2つの内の何れかの仮説が考えられる事を指摘した。

擧筆するに當り、恩師吉村教授の終始御懇切な御指導と御校閲に心から感謝致します。

文 献

- 1) 高岡 渉 (1952) 日本生理誌 14, 19
- 2) Thaysen, J. H. et al. (1954) Am. J. Physiol. 178, 155
- 3) 吉村寿人 (1953) 日本生理誌 15, 8
- 4) Baxter, H. (1933) J. B. C. 102, 203
- 5) Merkel, F. (1883) Leipzig F. CW. Vogel
- 6) Werther (1886) Pflüg. Arch. ges. Physiol. 38
- 7) White, A. G. et al. (1955) J. Clin. invest. 34, 246
- 8) H. Van Goor & J. C. E. Bruens (1947-1948) Acta Brevia Neerl Physiol. Pharmacol. Microbio. 15, 65
- 9) 森隆之助・岩崎幸太 (1953) 医学と生物学 29, 3
- 10) 山本良夫 (1948) 歯科学雑誌 5, 12
- 11) 林 謙; 条件反射学応用論 評論社
- 12) 梅本芳夫・賞道幸男; 医学と生物学 24, 93
- 13) 吉村寿人 (1948) pH 測定法の理論と実際
- 14) 斎藤幸一郎 (1937) 日本生理誌 2
- 15) 加藤政考・松田幸次郎・沼尻幸吉 (1948) 医学と生物学 13, 303
- 16) 藤井暢三 (1947) 生化学実験法 定量編
- 17) 石橋雅義・原田保男 (1935) 日化 56, 1234
- 18) 須藤憲三 (1934) 医化学的微量定量法
- 19) 高橋肱正・土肥一郎 (1953) 推計学入門 医学書院
- 20) Babkin, B. P.; Secretory mechanism of the digestive gland.
- 21) 畑村又好・津村善郎・奥野忠一・田中祐輔; スネデカー統計的方法 上
- 22) 緒方知三郎 (1955) 東京医事新報 5, 77

Summary

The parotid saliva and the mixture of submandibular and sublingual saliva (mixed saliva) were collected separately after pilocarpin injection through canules, attached to respective openings of parotid gland and of submandibular gland. The rate of salivary flow and pH, total CO_2 content (or bicarbonate content), Pco_2 , and Cl^- concentrations were measured with samples from human subjects and dogs. Outlines of results obtained are as follows:

- 1) pH, total CO_2 content, and Cl^- concentration of saliva are well correlated with

the rate of salivary flow, and they altogether increase or decrease hand in hand in one and the same sort of saliva from the one subject.

2) The pH of saliva is mainly governed by the bicarbonate content of saliva in the case of dog as well as of human which was already reported by Dr. TAKAOKA.

3) pH, and total CO_2 content of parotid as well as mixed saliva surpass the level of plasma, when the rate of salivary flow is enough high. Pco_2 of saliva remains, however, constant around the serum level, and Pco_2 of parotid saliva is always a little lower than that of mixed saliva. These facts ((2) and (3)) support the view that the bicarbonate of saliva is produced, at least partly, from metabolic CO_2 in the salivary gland.

4) The flowing rate of mixed saliva is higher than that of parotid saliva both in human and dog, while pH and total CO_2 content of parotid saliva are higher than those of mixed saliva.

5) pH and total CO_2 content of parotid saliva of dog are considerably higher than those of human, while those of mixed saliva are of the same level.

6) Cl^- concentrations is higher in parotid saliva than in mixed saliva of human subject, while it is reversed in the case of dog. Cl^- concentrations of both parotid and mixed saliva of dog are, however, higher than those of human subjects.

7) From these results, the author postulated that water and salts (especially NaCl) are excreted from serous cells of gland, while bicarbonate produced in the striated part of salivary gland duct.

Differences of acid-base balance of saliva, and also of rate of salivary flow among gland sorts and animal species, just described above, can be explained as due to differences of developments of component parts or cells of gland and duct.

8) As to the mechanism of bicarbonat production from metabolic CO_2 of striated cells, two possible hypothesis of the anion exchange and of the cation exchange were suggested

(Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine)

肺腔壁を隔膜とする滲透現象について 612.146:612.215.8

On Permeation through the Alveolar Wall as the Septum

横 村 庄 一 郎 (YOKOMURA-Shōichirō)*

I. 緒 言

両棲類の気管枝は嚢状の肺腔に連なり、肺腔壁には肺血管に属する毛細管が分布しているから、一方肺腔に溶液（外液）を注入して置いて、他方肺動脈から溶液（内液）を灌流すると、毛細管と肺腔との間の隔膜を通じて滲透現象が発現する。滲透により、水分乃至溶液が血管内から肺腔内に移動すると肺重量が増加し、反対に肺腔内から血管内に移動すると肺重量が減少するから、適当な装置を用い肺重量の変化を時間的に追究すると、滲透の消長を窺うことが出来る。2~3 薬物を肺動脈から灌流すると肺水腫の起ることは藤井重泰¹⁾などにより注意せられているが、肺腔壁を隔膜としての滲透現象を一般的に調べた報告は未だ見当たらない。

私は鋼線の弾性を利用した重量計を灌流装置に組合せた装置を考案し、内液並びに外液について溶質の種類と滲透圧とを種々に安排して、肺重量の消長を時間的に追究して次の諸問題を検討した。即ち肺腔壁における水分の移動は滲透圧の法則に従うか、従わない場合例えば陰性滲透の発現するような場合は無いか、肺腔壁の構成組織としては毛細管内皮層と肺胞上皮層ならびに両者間の僅かな間質が考えられるが、肺腔壁の水分移動に主役を演ずるのは何れの層であるか、これらの諸現象を通じて陰性滲透の機構、或いは膜の概念に寄与することは出来ないか、などの諸問題について検討した。以下それらの経緯を敘述する。

II. 実 験 方 法

1) 標本作成

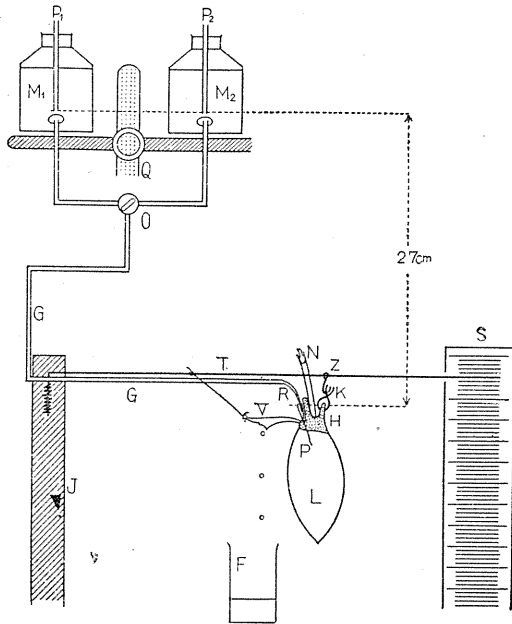
体重300g以上の可及的大なるヒキガエル(墓)

* 京都府立医科大学第2生理学教室

を用いて、左肺の灌流標本を作成した。墓の脊髄を挫圧した後、背位として腹壁及び胸廓を開き、腹静脈、腹部大動脈、後大静脈等を逐次結紮切断して、胃、腸、肝等を除去する。次に右肺皮動脈、右大動脈弓、右肺動脈、右肺静脈を結紮切断する。右気管枝を結紮切断して右肺を除去する。左肺並びに心臓、左肺動静脈、即ち左肺循環を残して他の動静脈をすべて結紮切除する。次に下顎を切り開いて、心臓、左肺、左肺動静脈、気管、喉頭およびこれに連続する食道上部を残して他の組織を可及的に除去する。ネラトンカテーテルを用いてこれを喉頭から肺腔内へ注意深く挿入し、抜けないように喉頭部分で結紮する。このカテーテルを通じて肺腔内に空気を適量注入した後、カテーテルの口を小硝子栓で閉じる。このようにして約15gの左肺灌流標本を作成する事が出来る。この時心臓は搏動を続け、血液は左肺循環系を循環している。

2) 実験装置

鋼線の弾性を利用した重量計を灌流装置に組合せた装置を考案した(第1図)。実験台上に垂直に固定した支柱Jの上端に長さ46cm、直径1.5mmの鋼線Tの一端を固定して、そこから概ね水平になるように鋼線Tを差し出す。鋼線Tの、支柱から26cmの部位に鉤Zを固定して吊し、この鉤に左肺灌流標本を吊下げるようにしておく。灌流装置のMariott瓶M₁には0.65% NaCl溶液を、M₂には他の被検灌流液をおさめておく。P₁、P₂により灌流圧を一定に保つ。M₁、M₂から三方活栓Oを通じて連結したゴム管Gを、支柱Jの上部に導いて、そこからゴム管Gを鋼線Tに沿って伝わしめ、鉤Zを吊した部位の近くで小硝子管Rに連結する、クレンメKを用いて標本を鉤Zにつり下げた後、肺動脈を心臓に近い部位で結紮切断し、三方活栓Oを用い



第1図

M₁, M₂: Mariott 瓶, P₁, P₂: 灌流圧を一定にするための硝子管, Q: Mariott 瓶昇降装置, O: 三方活栓, G: ゴム管, J: 支柱, T: 鋼線, R: 小硝子管, P: 肺動脈, L: 墓肺, H: 食道上部, K: クレンメ, Z: 鉤, S: 目盛り, V: 肺静脈, N: カテーテル, F: 灌流液瓶.

て Mariott 瓶 M₁ から 0.65% NaCl 溶液を、ゴム管 G と小硝子管 R を通じて流出させながら、この小硝子管 R を肺動脈 P に挿入する。これが抜けないように結紮し、直ちに肺静脈 V を心臓に近い部位で切断する、この様にして灌流を始めると、肺静脈 V の先端から血液がまず流出するが、急速に灌流液は赤味を失うに至る。初め鮮紅色を呈していた肺 L は、1 分間以内に殆ど赤味を失い、3~5 分間以内に僅かに乳白色乃至無色、半透明の外観を呈するに至り、灌流液は全く無色透明となって肺静脈 V の断端から規則正しく滴下するようになる。

鋼線 T が弾性によって上下に動く時、その先端で指示できる場所に目盛り S を立てた。鋼線 T に固定した鉤に、分銅を用いて荷重を行って

$$G \text{ (g 単位)} = 0.444S \text{ (mm 単位)}$$

の関係の成立することを確認した。頻回検査をしたが狂いは殆どない。

3) 灌流方法

内液 (肺血管灌流液) と外液 (肺腔注入液) とに種々の溶液又は水を用い、肺血管を灌流しながら肺重量及び滴数を時間的に観察した。塩類溶液作成には主として吉村氏の表を用いた。血液等張塩類溶液を 1P 塩類溶液と記載した。

内液の灌流には常に 1P NaCl を以て開始する。10 分後に滴数を測りこれを Z₀ とする。此のまま内液の灌流を続ける時と、此处で内液を切替える時とあるが、いずれにしても次には速かに外液 6cc を、予め挿入してあるカテーテルを通じて肺腔に注入する。注入後直ちに肺の重量を測定しこれを G₀ とする。此の後 10 分毎に重量並びに滴数を測定する。n 分後の重量及び滴数を、G_n 及び Z_n とすると、重量並びに滴数の増減率 ΔG% 及び ΔZ% は次の式で表われる。

$$\Delta G\% = \frac{G_n - G_0}{G_0} \times 100$$

$$\Delta Z\% = \frac{Z_n - Z_0}{Z_0} \times 100$$

各種の色素灌流実験によって被検灌流液に切替えた後 10 分間で被検液が肺を充分灌流することは、藤井により述べられているが、私も多数の実験においてそれを確認した。灌流滴数が 10 分間で 0 滴となった時は、灌流停止と認めて測定を中止した。重量増加が甚しい時には、吊下げられた肺の下端が実験台上に達するので、その直前に測定を中止したが、一般に 90~120 分間測定を行った。

灌流圧は、藤井の実験と同様に通常 27cm H₂O 圧とし、またこれと比較するために、17, 37, 54cm H₂O 圧でも別に実験を行った。実験装置に示す様に、Mariott 瓶の P₁, P₂ の下端から肺動脈への小硝子管挿入口までの高さを 27cm とし、更に Mariott 瓶昇降装置により、肺の重量増減による昇降に際してもたえず一定圧に保つようにした。陳²⁾によれば、蛙では肺内圧が約 20mm H₂O 圧の場合、即ち中等度に膨隆せる肺において血行が最も良好に保たれていると報告されているので、本実験においても墓肺を中等度に膨隆せしめた。外液を入れる前、1P NaCl

第1表 1P NaCl | 内液=外液 | 1P NaCl

No	年月	室温(℃)	0'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	70'	80'	90'	100'	110'	120'
60	22.V	18	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	-10	-10	-10	-10	-20	-20	-20	-20	-20	-20	-20
61	22.V	22	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
62	22.V	24	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
227	22.VI	24	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	$+33$	$+33$	$+40$	$+33$	$+33$	$+33$	$+33$	$+33$	$+11$	$+11$	$+11$
230	22.VI	23	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
238	22.VI	24	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
242	22.VI	26	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
249	22.VI	30	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
261	22.VI	31	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
266	22.VI	33	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
272	22.VI	33	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
308	22.VI	24	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
309	22.VI	24	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
312	22.VI	19	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
314	22.VI	20	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
313	22.VI	20	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
317	22.VI	20	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
318	22.VI	19	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
320	22.VI	18	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
330	22.VI	14	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
331	22.VI	12	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
184	22.VI	9	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
187	22.VI	10	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
38	22.VI	13	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
44	22.VI	19	$\Delta G\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0
			$\Delta Z\%$	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0	± 0

の灌流により滴数(分)は36前後に保たれ、これは灌流条件が良好である標示となるから、これを確認してから実験を始めた。

実験は通常、室温で行い、また別に冬期において恒温室内で 30℃ 以上としての実験も行った。なお季節または温度の影響を検討するために実験期間における京都測候所の最高並びに最低気温を調査した。

Ⅲ. 実験成績

1) NaCl

内液と外液とがともに 1P NaCl のとき(第1表90分値において 4G% が ± 0 にとどまるものが14例、+2~+24 が8例、+86以上が3例であって、この全数25例について 4G% の誤差を調べ、Wright の棄却の法則³⁾に従って 4G% についての観測の残差が単観測の推差の 3.5 倍を超えるもの4例を棄却すると、残りの21例に

の6例中、90分値で重量減少5例、増加1例であって、内液が 1P NaCl、外液が 0.1P NaCl の時には、肺重量が減少することが通則的に認められた。重量増加の1例も、灌流初期には重量減少を示している。滴数が不変または著明な増加を示しているのは、血管内へ肺腔から水分が流入するためと考えられる。

内液が 0.1P NaCl、外液が 1P NaCl の時(第3表)の2例とも重量増加を認めた。滴数は灌流初期から著明な減少を示した。これは血管内の水分が肺腔内に流入するからであろう。

以上の NaCl に関する実験は、私の研究の基礎をなすものであるから、4G%、4Z% を90~120 分間に亘って10分毎の数値を表示した。年月を記入したのは季節の影響を慮ったからである。これらの結果から、内液と外液との隔膜に当る肺腔壁は、NaCl を透過せしめないが、水分を透過せしめる。完全半透性を具備している

における 4G% は、 ± 0 が14例、+2~+17が7例で、単観測の推差は ± 3.9 であって、4G% の平均値と平均値の推差は 3.41 ± 0.85 となった。即ち内液と外液とがともに 1P NaCl の時は重量不変に留まるのが常態と考えられる。滴数の時間的変化は一般に著明ではないが、重量増加の高度な1例(棄却されたもの)では、重量増加と共に著明な滴数減少を示した。

内液が 1P NaCl、外液が 0.1P NaCl のとき(第2表)

第2表 1P NaCl | 内液>外液 | 0.1P NaCl

No.	年月	室温 (°C)	0'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	70'	80'	90'	100'	110'	120'
154	29. I	14	{ $\Delta G\%$ $\Delta Z\%$	± 0 ± 0	- 6 + 75	- 12 + 100	- 15 + 125	- 16 + 125	- 18 + 125	- 18 + 150	- 19 + 150	- 21 + 150	- 21 + 150		
39	28. III	13	{ $\Delta G\%$ $\Delta Z\%$	± 0 ± 0	- 1 + 30	- 3 + 30	- 4 + 30	- 4 + 30	- 4 + 30	- 5 + 30	- 5 + 30	- 5 + 30	- 5 + 30		
40	28. IV	14	{ $\Delta G\%$ $\Delta Z\%$	± 0 ± 0	- 1 + 20	- 3 + 20	- 3 + 120	- 5 + 200	- 5 + 220	- 5 + 260	- 5 + 300	- 5 + 300	- 5 + 300		
250	29. VII	31	{ $\Delta G\%$ $\Delta Z\%$	± 0 ± 0	- 4 ± 0	- 9 ± 0	- 11 ± 0	- 15 ± 0	- 15 ± 0	- 15 ± 0	- 15 ± 0	- 15 ± 0	- 15 ± 0	- 15 ± 0	- 11 ± 0
298	29. IX	28	{ $\Delta G\%$ $\Delta Z\%$	± 0 ± 0	- 2 + 33	- 4 + 33	- 4 + 33	± 0 + 33	± 0 + 33	+ 20 + 33	+ 27 + 33	+ 42 + 33	+ 60 + 33	+ 84 - 18	+ 107 - 18
315	29. X	21	{ $\Delta G\%$ $\Delta Z\%$	± 0 ± 0	± 0 ± 0	± 0 ± 0	± 0 ± 0	± 0 ± 0	- 11 ± 0	- 11 ± 0	- 15 ± 0	- 15 ± 0	- 17 ± 0	- 17 ± 0	- 17 ± 0

第3表 0.1P NaCl | 内液<外液 | 1P NaCl

No.	年月	室温 (°C)	0'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	70'	80'	90'
49	28. IV	16	{ $\Delta G\%$ $\Delta Z\%$	± 0 ± 0	± 0 - 50	+ 2 - 93	+ 3 - 93	+ 3 - 93	+ 3 - 95	+ 5 - 95	+ 6 - 96	+ 8 - 96
158	29. I	14	{ $\Delta G\%$ $\Delta Z\%$	+ 0 ± 0	+ 6 - 67	+ 8 - 76	+ 16 - 76	+ 20 - 92	+ 24 - 92	+ 30 - 92	+ 34 - 92	+ 43 - 92

第4表

(i) 1P NaCl 内液=外液 1P LiCl				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
342	30. I	12	± 0	± 0
351	30. II	14	± 0	+ 66
84	28. VII	32	+ 100	+ 6
252	29. VII	30	+ 30	± 0
256	29. VII	28	+ 12	± 0
240	29. VII	24	+ 5	+ 22
111	28. IX	28	+ 35	+ 50
144	28. XII	14	± 0	+ 23

(ii) 1P NaCl 内液=外液 1P KCl				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
341	30. I	9	+ 1	± 0
350	30. II	13	± 0	± 0
237	29. VI	28	± 0	- 10
232	29. VI	22	+ 3	+ 20
254	29. VII	31	+ 27	+ 66
83	28. VII	30	+ 80	- 2
282	29. VIII	33	+ 4	± 0
146	28. XII	11	± 0	+ 5

(iii) 1P NaCl 内液=外液 1P CaCl ₂				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
343	30. I	10	± 0	± 0
352	30. II	12	± 0	± 0
231	29. VI	25	+ 3	+ 46
255	29. VII	32	+ 27	± 0
253	29. VII	30	+ 110	- 67
239	29. VII	27	+ 2	± 0
88	28. VIII	28	+ 20	+ 40
147	28. XII	12	+ 2	+ 25

(iv) 1P NaCl 内液=外液 1P BaCl ₂				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
87	28. VIII	28	+ 2	- 17

(v) 1P NaCl 内液=外液 1P NaBr				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
177	29. II	12	+ 6	+ 28
85	28. VII	32	+ 4	± 0
264	29. VIII	32	+ 19	± 0
265	29. VIII	32	+ 36	± 0
109	28. IX	25	+ 15	+ 32

(vi) 1P NaCl 内液=外液 1P NaI				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
176	29. II	12	± 0	+ 12
86	28. VIII	30	+ 8	+ 33
262	29. VIII	32	+ 4	± 0
263	29. VIII	32	+ 8	$\pm 0^*$

こと、換言すれば、細胞の表層にある形質膜と同様な半透性を具備していることが判った。肺腔壁は毛細管内皮と、肺胞上皮と、両者間の僅かな間質とから出来ているが、毛細管内皮は一般に認められているように、NaClをも、水をも透過せしめるが、膠質を透過せしめない不全半透性、殊に透析膜（限外濾過膜）としての性質を持っているものであるから、上の実験に見られるような肺腔壁の完全半透性は、どうして

も肺胞上皮に基づくものと考えより他に途は無い。

2) その他の塩類

内液を 1P NaCl, 外液をその他の塩類の 1P 溶液とする時 (第4表), 外液に LiCl, CaCl₂ を用いた時の方が, 外液に NaBr, NaI を用いた時よりも重量増加が著明に起った. 外液を 1P NaCl, 内液をその他の塩類の 1P 溶液とする時 (第5表), 内液に NaBr, NaI を用いた時の方が, 内液に LiCl, CaCl₂ を用いた時よりも重量増加が著明に起った. 1) の内液および外液がともに 1P NaCl の時の $\Delta G\%$ の単観測の推差は ± 3.9 であったから, 此の5倍に当る $+20$ よりも, いまの場合に $\Delta G\%$ の大になることは, いまの場合に NaCl 以外の塩類の特殊作用により斯かる結果が招致されたものと看做される. $\Delta G\%$ が $+20$ 以上になる例数の割合は, NaBr を内から作用させた時は $6/14$ であるが, 外から作用させた時は $1/5$ である. NaI では内からの作用では $13/17$, 外からの作用では $0/4$ で

第5表

(i) 1P LiCl 内液=外液 1P NaCl				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
186	29. II	17	-3	-17
293	29. VII	31	± 0	± 0
294	29. VII	30	+4	± 0
92	28. VII	29	-2	-73
295	29. VII	29	+6	-45
110	28. IX	26	+5	-50

(ii) 1P KCl 内液=外液 1P NaCl				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
364	30. III	12	± 0	-34
289	29. VII	32	+16	+100
290	29. VII	32	+20	+80
291	29. VII	32	+11	+100
292	29. VII	32	+21	+166
91	28. VII	27	± 0	-88

(iii) 1P CaCl ₂ 内液=外液 1P NaCl				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
362	30. III	11	+9	-60
97	28. VII	28	+6	-87
296	29. IX	30	+19	-80
297	29. IX	28	± 0	-98

(iv) 1P BaCl ₂ 内液=外液 1P NaCl				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (40')	$\Delta Z\%$ (40')
98	28. VII	26	-8	-99

(v) 1P NaBr 内液=外液 1P NaCl (* 60')				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
345	30. I	13	+4	± 0
233	29. VI	23	+6	± 0
234	29. VI	23	+4	± 0
257	29. VII	28	+91	+33
258	29. VII	28	+41	+50
93	28. VII	32	*+112	*-97
303	29. IX	32	+48	-34
304	29. IX	31	+7	± 0
305	29. IX	30	+13	± 0
108	28. IX	24	+50	-19
117	28. IX	24	+22	+271
139	28. XI	14	+6	-13
140	28. XI	17	+3	-15
329	29. XII	17	+7	± 0

(vi) 1P NaI 内液=外液 1P NaCl (* 60')				
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
344	30. I	12	+14	± 0
348	30. II	10	+5	± 0
235	29. VI	24	+86	-17
236	29. VI	24	+56	-56
94	28. VII	32	+50	-98
267	29. VII	33	+170	-92
260	29. VII	30	+349	-99
268	29. VII	33	+162	+80
259	29. VII	28	+67	-92
306	29. IX	27	+179	-96
307	29. IX	24	+386	-96
310	29. X	25	+116	-42
311	29. X	25	*+167	*-84
316	29. X	22	+24	-25
319	29. XI	19	+52	+50
145	28. XII	13	+17	+92
148	28. XII	15	+5	+25

ある. CaCl₂ を内から作用させては $0/4$ であるが, 外からでは $3/8$ となり, LiCl を内から作用させては $0/6$ であるが, 外からでは $3/8$ になる. 季節的に検討すると斯かる現象は V~IX 月で, 環境温度の高い季節ほど起り易いようである.

なお, 内液を NaCl 以外の塩類の 1P 溶液とし, 外液を 0.1P NaCl または水とする時 (第6表), 内液が 1P NaBr または 1P NaI で, 外

第6表

内液	外液	No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
1P LiCl	> Aqua	361	30. III	13	± 0	+12
1P KCl	> Aqua	358	30. II	16	-20	-67
1P CaCl ₂	> Aqua	359	30. II	19	-20	-99
1P NaBr	> Aqua	357	30. II	16	+30	± 0
1P NaI	> Aqua	334	29. XII	13	+30	-43
1P NaI	> 0.1P NaCl	332	29. XII	14	-20	-80

第7表

(i) 0.05%サポニン 1P NaCl		内=外 液=液		1P NaCl	
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')	
42	28. IV	18	+ 4	-99	
43	28. IV	19	+ 6	-75	
45	28. IV	19	+ 27	-92	
218	29. IV	14	+ 37	-80	
224	29. V	25	+195	-76	
241	29. VII	25	+ 24	-99	
244	29. VII	26	+ 9	-97	

(ii) 0.05%サポニン 1P NaCl		内=外 液=液		0.1P NaCl	
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')	
202	29. III	17	+340	-50	
243	29. VII	25	- 17	-99	
299	29. IX	25	+361	-89	
300	29. IX	25	+381	-90	
301	29. IX	25	+366	-90	
302	29. IX	30	+163	-90	

第8表

(i) 飽和チモール 1P NaCl		内=外 液=液		1P NaCl (* 60')	
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')	
346	30. I	12	*+281	*-99	
353	30. II	12	+266	-96	
354	30. II	11	+166	-99	
247	29. VII	26	+100	-99	
277	29. VIII	35	*+474	*-97	
283	29. VIII	33	*+377	*-99	
284	29. VIII	33	*+351	*-99	

(ii) 飽和チモール 1P NaCl		内=外 液=液		0.1P NaCl (* 60')	
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')	
347	30. I	15	+100	-99	
355	30. II	11	+116	-99	
204	29. III	15	+314	-97	
248	29. VII	28	*+227	*-84	
278	29. VIII	31	+486	-99	

(iii) 1P NaCl		内=外 液=液		飽和チモール 1P NaCl	
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')	
280	29. VIII	30	+439	-60	
281	29. VIII	30	+339	-75	

液が水の場合に重量増加を示している。

3) 表面活性物質

表面活性物質として、サポニン、チモール、Tergitol (アニオン活性剤)、ニッサンカチオン BB (カチオン活性剤)、エチル酒精を用いた(第7~10表)。これらの物質の濃度は表中に明示したから此処には省略する。実験の結果、内液並びに外液をとものに 1P NaCl とし、内液にこれらの物質を加えると肺重量は増加する。内液が 1P NaCl で、外液が 0.1P NaCl の場合にも、内液にそれらの物質を加えると肺重量は増加する。即ちそれらの物質が加えられない場合には、肺重量が減少するのを常とするような場合にも、それらの物質は特異的に肺重量を増加せしめるのである。内外液がともに 1P NaCl の場合、それらの物質を外液に加えても肺重量の増加する事が、チモールなどで認められる。滴数は、サポニン、

第9表

内液	外液	No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')
0.1% T. L. } 1P NaCl }	= 1P NaCl	191	29. III	18	+111	-4
1P NaCl = { 0.1% T. L. } 1P NaCl }	= 1P NaCl	185	29. III	13	+3	+60
0.1% B. B. } 1P NaCl }	= 1P NaCl	194	29. III	14	+21	+231
1P NaCl = { 0.31% B. B. } 0.51% NaCl }	= 1P NaCl	196	29. III	15	+16	+5
0.33% T. L. } 0.54% NaCl }	= { 0.31% B. B. } 0.51% NaCl }	197	29. III	12	+140	-25

T. L. : Tergitol (原液), B. B. : ニッサンカチオン BB 原液

第10表

(i) 0.5P C ₂ H ₅ OH 0.5P NaCl		内=外 液=液		1P NaCl	
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')	
207	29. IV	21	+22	-9	
245	29. VII	28	+34	+11	
246	29. VII	24	+39	+40	
269	29. VIII	33	+80	± 0	
270	29. VIII	33	+77	± 0	
271	29. VIII	33	+32	-25	

(ii) 1P C ₂ H ₅ OH		内>外 液>液		0.1P NaCl	
No.	年月	室温 (°C)	$\Delta G\%$ (90')	$\Delta Z\%$ (90')	
209	29. IV	20	+41	-99	

チモールで著明に減少する。殊にサポニンにおける滴数の時間的経過は特異であって興味深い。記述を私の他の論文⁴⁾にゆずる。

4) 酸および塩基

内外液を塩類の 1P 溶液として、HCl を N/200 の割合に、或いは NaOH を、外液ならば N/200、内液ならば N/2000 の割合に加えて実験を行った (第11表)。NaOH を内液に N/200~N/1000 の割合に加えたり、HCl を内外液に N/200 の割合に加えると、滴数は速かに減少し灌流が停止して仕舞う。内外液がともに 1P NaCl の場合には肺重量は増加しないが、内液または外液に

第11表

内液	外液	No.	年月	室温 (°C)	4G% (90')	4Z% (90')
1P NaCl = 1P NaCl		164	29. I	9	± 0	± 0
$\left. \begin{array}{l} \frac{N}{200} \text{ HCl} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right\} = 1P \text{ NaCl}$		$\left\{ \begin{array}{l} 129 \\ 136 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 28. X \\ 28. XI \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 21 \\ 19 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} +75 \\ +97 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} -92 \\ -83 \end{array} \right.$
$1P \text{ NaCl} = \left\{ \begin{array}{l} \frac{N}{200} \text{ HCl} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right.$		128	28. X	21	+ 8	- 2
$\left. \begin{array}{l} \frac{N}{2000} \text{ NaOH} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right\} = 1P \text{ NaCl}$		135	28. XI	17	± 0	+33
$1P \text{ NaCl} = \left\{ \begin{array}{l} \frac{N}{200} \text{ NaOH} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right.$		133	28. XI	19	+20	+17
$\left. \begin{array}{l} \frac{N}{200} \text{ HCl} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \frac{N}{200} \text{ NaOH} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right.$		130	28. XI	17	+62	-87
$\left. \begin{array}{l} \frac{N}{200} \text{ HCl} \\ 1P \text{ NaBr} \end{array} \right\} = 1P \text{ NaCl}$		162	29. I	15	+90	-93
$\left. \begin{array}{l} \frac{N}{200} \text{ HCl} \\ 1P \text{ NaBr} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \frac{N}{200} \text{ NaOH} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right.$		163	29. I	15	+113	-62

第12表

内液	外液	No.	年月	室温 (°C)	4G% (90')	4Z% (90')
$\left. \begin{array}{l} 0.001\% \text{ C.R.} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right\} = 1P \text{ NaCl}$		113	28. IX	25	+14	+11
$0.001\% \text{ C.R.} = \left\{ \begin{array}{l} 0.001\% \text{ K.V.} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right.$		$\left\{ \begin{array}{l} 112 \\ 119 \\ 120 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 28. IX \\ 28. X \\ 28. X \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 28 \\ 23 \\ 22 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} +37 \\ +20 \\ +50 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} -18 \\ +30 \\ -15 \end{array} \right.$
$\left. \begin{array}{l} 0.001\% \text{ K.V.} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right\} = 1P \text{ NaCl}$		127	28. X	22	+10	± 0
$\left. \begin{array}{l} 0.001\% \text{ K.V.} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} 0.001\% \text{ C.R.} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right.$		121	28. X	23	+ 6	± 0
$1P \text{ NaCl} = \left\{ \begin{array}{l} 0.001\% \text{ K.V.} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right.$		123	28. X	23	+10	+ 5
$1P \text{ NaCl} = \left\{ \begin{array}{l} 0.001\% \text{ C.R.} \\ 1P \text{ NaCl} \end{array} \right.$		126	28. X	23	+ 6	- 5

C. R. : Congorot, K. V. : Krystallviolett.

HCl を加えると肺重量は増加し、殊に HCl を内液に加えた時に増加は著しい。内液の NaCl を NaBr で置きかえても同様な結果が現われる。内液の 1P NaCl に N/2000 NaOH を加えても肺重量に増減は無いが、外液の 1P NaCl に N/200 NaOH を加えると肺重量は増加する。内液の 1P NaCl または NaBr に N/200 HCl、外液の 1P NaCl に N/200 NaOH を加えると肺重量の増加は更に著しく現われる。

5) アニリン色素

酸性アニリン色素として Congorot、塩基性アニリン色素として Krystallviolett を用いた。内外液を共に 1P NaCl とし、色素を 0.001% の割合に加えた (第12表)。内液と外液、酸性アニリン色素と塩基性アニリン色素の種々の組合せのうち、肺重量の増加が著しく、4G% が +20 以上になるのは、内液に Congorot (色素アニオン) を、外液に Krystallviolett (色素カチオン) を配した場合のみである。これは 3) において、内液に Tergitol (アニオン活性剤)、外液にニッサンカチオン BB (カチオン活性剤) を配した時に肺重量の増加が顕著であったことと対比すると、両者の間には互に軌を1つにする処が窺われる。更に、2) において、内液では Br⁻, I⁻ (アニオン)、外液では Ca⁺⁺, Li⁺ (カチオン) が肺重量増加に効果的であったことも、これらの事実と関連して何か共通の機構に由来するものように思われる。

6) 灌流圧の影響

内液と外液とをともに 1P NaCl として灌流圧が 17, 27, 37 及び 54cmH₂O の場合について夫々実験したが、灌流圧の大小にかかわらず肺重量の増減を生じない。内液を 1P NaCl、外液を 0.1P NaCl とすると肺重量は減少するが、減少の程度は、灌流圧を 27cmH₂O にしても、亦それを 54cmH₂O にしても相違はない (第13表)。即ち灌流圧の大小によっては、肺重量の増減に余り相違を来さないようである。

第13表

内液	外液	灌流圧 (cmH ₂ O)	No.	年月	室温 (°C)	4G% (90')	4Z% (90')
1P NaCl=1P NaCl			17	68 28. V	25	± 0	± 0
				70 28. V	24	± 0	+ 11
				71 28. V	24	± 0	- 12
			27	320 29. XI	18	± 0	+ 25
				330 29. XII	14	± 0	± 0
				331 29. XII	12	± 0	± 0
			37	64 28. V	20	+ 3	- 3
				65 28. V	20	± 0	- 19
				66 28. V	23	± 0	- 13
			54	322 29. XI	18	+19	+100
				337 29. XII	15	+ 4	+ 66
				340 30. I	11	+ 2	± 0
1P NaCl>0.1P NaCl			27	154 29. I	14	-21	+125
				315 29. X	21	-17	± 0
			54	323 29. XI	16	-31	+130
				326 29. XII	15	-29	+ 64

7) 季節および温度の影響

V~IX月を夏期とし、XI~III月を冬期として、今迄行った灌流圧 27cmH₂O の実験例のうち、夏期にも亦冬期にも共に行った実験種別について、肺重量の著しい増加または減少を示すものと、僅かな増減乃至不変のものとを集計してみた(第14表)。此の表では 4G% が±20以上の場合を増加または減少とし、それ以下のものを微変とした。其の結果、増加は冬期の 7/38 (18%) に対し、夏期は 37/75 (49%) であって、肺重量の増加は冬期より夏期に遙かに起り易い。冬期において環境温度を高めて 30°C 以上

第14表

滲透圧	夏期 (V~IX月)				冬期 (XI~III月)			
	増加	微変	減少	計	増加	微変	減少	計
内液>外液	3	1		4	3	1	1	5
内液=外液	34	37		71	4	29		33
内液<外液								
合計	37	38		75	7	30	1	38

第15表

内液	外液	No.	年月	室温 (°C)	恒温室 温 (°C)	4G% (90')	4Z% (90')
1P NaCl=1P NaCl		164	29. I	9		± 0	± 0
		181	29. II	10		± 0	+ 7
		182	29. II	10	35	+242	-25
		183	29. II	10	35	+181	-40
1P NaBr=1P NaCl		345	30. I	13		+ 4	± 0
		329	29. XII	17		+ 7	± 0
		150	28. XII	15	35	+ 17	± 0
		151	28. XII	10	30	+ 44	-50
1P NaCl=1P LiCl		342	30. I	12		± 0	± 0
		179	29. II	12	35	+203	-40
1P NaCl=1P CaCl ₂		352	30. II	12		± 0	± 0
		180	29. II	11	35	+170	-72

(恒温室) として実験を行うと、冬期においても 6 例の全例に重量増加が認められる(第15表)。従って肺重量の増加傾向を促進するのは環境温度に他ならぬものと考えられる。

8) 滴数増減と重量増減との関係

肺重量に増減の無い場合には滴数にも増減が無いのが普通である。肺重量の増加の著明な場合には、最後の段階で常に肺重量は急激に増加し、滴数は著しく減少する。これは肺腔内へ液体が貯留するため、肺血管が圧迫せられるからである。処で此の最後の段階に至るまでの範囲では、肺重量の増加は徐々に進行し、これとは全く別の歩調で滴数の変化は進行する。即ち滴数は或いは当初から減少に傾くものと、若干の時間を経てから急速に減少を始めるものがある。又当初に急に減少して最小点を画き、次いで急に増加して初めの状態近く迄進み、此処から再び減少の経過を辿るものがある。此の最後の型はサボニンに特有である。

IV. 考 察

内外液が共に 1P NaCl の場合には肺重量の増減は認められないが、内液が 0.1P NaCl、外液が 1P NaCl の場合には肺重量が増加し、内液が 1P NaCl、外液が 0.1P NaCl の場合には肺重量が減少することが通則的に認められる。従って此処で問題となる隔膜には、細胞に見られるような半透性が具っていて、重量の増減、即ち水分の移動には滲透圧の法則が適用せられるものと一応考えることが出来る。最初に述べた様に肺腔壁は、毛細管内皮層、間質、肺胞上皮層とから出来ているが、毛細管内皮

層は従来多数の学者の研究により、透析膜（限外濾過膜）であることが判っているから、本実験における隔膜たる肺腔壁の半透性、精しく言えば、膠質をも亦晶質をも透過せしめない完全半透膜は、どうしてもこれを肺胞上皮層に帰せねばならぬ。

しかるに内外液の滲透圧が等しいにかかわらず、或る種の溶質を用いると肺重量の増加を來たす場合を見出すことが出來た。肺重量の増加は外液の水分増量を意味し、結局は滲透圧の低い側へ、滲透圧の高い側から隔膜を通じて水分が移動することになるから、これも一種の陰性滲透（負の異常滲透）に属する。肺腔壁において斯かる陰性滲透を惹起する物質は、私の実験から甲乙2類に分ける事が出来る。甲類に属する物質は、サポニン、チモール、酒精など表面活性的な物質であって、内外液が滲透圧を等しくする場合にも、また内液の滲透圧が外液の滲透圧より高い場合にも共に内液より外液へ水分の移動を惹起して陰性滲透を招來する。又甲類の物質のうち、チモールでは、これを内液に作用させても、外液に作用させても、陰性滲透は斉しく起って來る。乙類に属する物質は塩類であって、乙類の物質のうち、NaBr 及び NaI はこれを内液に作用させた時に、LiCl 及び CaCl₂ はこれを外液に作用させた時に陰性滲透を起し易い。甲乙いずれの部類においても、環境温度の高いほど陰性滲透の発現は促進される。

陰性滲透は森永⁵⁾、北川⁶⁾などの研究報告に掲げられているように、人工膜では或る種の全透膜に起る一過性の現象である。肺腔膜は一応完全半透膜（溶媒を透すが溶質の総てを透さぬ膜）として取扱われるのであるから、此の膜に陰性滲透が起るためには、内または外液に加えられた物質によって、初め半透膜であった隔膜が、一種の全透膜に変化したものと考えねばならぬ。小川¹²⁾などは表面活性的な物質を添加すると、コロジウム膜の膜電位差は、膜の透過性の増大する方向に変化すると述べている。肺腔膜に陰性滲透を惹起する物質にサポニン、チモールなど表面活性的な物質のあることは、これ

らの物質により肺腔壁の透過性が増大して一種の全透膜となり陰性滲透が起るようになったものと考えられる。

陰性滲透の発現機序について、古くは J. Loeb¹³⁾ のイオン反撥説があるが、近頃は、Sollner¹⁵⁾ の電氣滲透説が基調になっている。これには膜に大小の微孔が分布していることを仮定し、大なる微孔に起る拡散電位差が電源になって、小なる微孔において帯電している水が電氣滲透的に移動して陰性滲透を起すものとしている。従って H. B. Bull¹⁶⁾ の言葉をかりるならば、電荷の符号が膜の電荷の符号と同じである様なイオンの方が膜中の移動度が大きい場合に陰性滲透が起る事になる。私の実験では pH は中性附近であるから、隔膜の実質をなす蛋白質は負の電荷を有している。用いた塩類の陰イオン陽イオンより移動度が大きであって Nernst 又は Henderson の式から計算される様に、拡散電位差（第16表）は外液が陰極側に、内液が陽極側に当たっている。それゆえ微孔で正の電荷を持った水は外液の方へ電氣滲透を起して此处に陰性滲透が起るものと解することも出来るのである。

教室の相沢¹⁷⁾、今井¹⁸⁾などは夙に膜微孔の分布について帰納的に推論していた。これは膜の面に沿うての方向、いわば切線的方向における不等質性である。これと共に膜の垂直的方向における不等質性、例えば膜の両面が互に性質を異にすることも考える事が出来る。また膜の概念には、膜自体のみならず膜を場とする諸現象がともに包括されるものとする、Sollner 所説の如く膜の外表面が陰極に、膜の内表面が陽極

第16表

内液（血管）	外液（肺腔）	拡散電位差
		内液 (+) 外液 (-)
1P NaCl	1P NaCl	± 0.00
1P NaCl	0.5P NaCl	+ 3.48
1P NaCl	0.1P NaCl	+ 11.58
1P NaCl	1P LiCl	+ 2.58
1P NaCl	1P KCl	+ 4.31
1P CaCl ₂	1P NaCl	+ 6.78
1P BaCl ₂	1P NaCl	+ 6.30
1P NaBr	1P NaCl	+ 0.61
1P NaI	1P NaCl	- 0.08
1P NaI	0.1P NaCl	+ 12.44

に当る場合には、膜の垂直的方向に不等質性が成立する事になる。われわれは陰性浸透の発現には、一般的に膜の切線並びに垂直的方向における不等質性の成立がその契機となる事を構想している。内液に Br^- , I^- , 外液に Ca^{++} , Li^+ , K^+ が加わると陰性浸透を起し易くなるのは、斯かる垂直的方向における不等質性の成立に拠るものであって、其の具体的事象は未だ明かではないが、垂直的方向における二重層の電位勾配の如きも其の1つに属するようと思われる。

V. 総 括

蟾の肺血管を灌流する溶液（内液）と、肺腔内に注入した溶液（外液）との、溶質並びに浸透圧を種々に按排して、肺重量の増減を標識に選り、肺腔壁を隔膜としての水分の移動を研究した。其の結果多くの実例は浸透圧の法則に従い、肺腔上皮層の完全半透性が主役を演じていることが判ったが、或る種の物質、例えばサポニン、チモール、酒精など（甲類）、又 NaBr , NaI , CaCl_2 , LiCl , KCl など（乙類）を作用させると陰性浸透の起ることを見出した。次いで陰性浸透の発現する契機として、膜の切線方向における不等質性と共に、垂直的方向における不等質性を挙ぐべきこと、並びに膜の概念としては膜自体のみならず、膜を場とする諸条件が其の中に包含せらるべきことを主張した。

文 献

- 1) 藤井重泰 (1951) 灌流肺血管膜電位差に関する研究 日本生理誌 13, 40
- 2) 陳 錫 元 (1935) 肺内圧と肺血行との関係に就いて 東京医事新誌 2913, 165
- 3) 山田陽清; 最小自乗法
- 4) 横村庄一郎 (1956) 肺血管灌流に及ぼす諸物質の作用 (京府医大誌近刊掲載予定)
- 5) 森永一郎 (1950) 陰性浸透に関する研究 (仮印刷済) (京府医大誌近刊掲載予定)
- 6) 北川 孝 (1954) 陰性浸透に関する知見補遺 日本生理誌 16, 404
- 7) 勝 義孝 (1954) 陰性浸透について 日本生理誌 16, 227
- 8) 勝 義孝 (1954) 陰性浸透について 日本化学会第7年会講演要旨集 7
- 9) 斎藤修三 (1955) 陰性浸透の研究 日本生理誌 17, 135
- 10) 勝 義孝 (1954) 生物界面起電現象について 細胞化学シンポジウム 3, 75
- 11) 北川 孝 (1954) 陰性浸透発現膜の探究 京府医大誌 55, 6
- 12) 小川 登 (1951) コロジウム膜の膜電位差及び透過性に及ぼす表面活性物質の影響 日本生理誌 13, 40
- 13) Loeb, L. (1919) J. Gen. Physiol. 1, 717
- 14) Loeb, L. (1920) J. Gen. Physiol. 2, 88, 173, 255, 387, 563, 659, 673
- 15) Sollner, K. (1930) Ztschr. f. Electrochemie 36, 36, 234
- 16) Bull, H. B. (1951) Physical Biochemistry
- 17) 相沢正男 (1931) 色素のコロジウム膜透過性に就いて 京府医大誌 5, 1131
- 18) 今井好直 (1933) 膜の微孔分布に関する研究 京府医大誌 8, 833

Summary

Begulating variously the solute and osmotic pressure of the solution (the inside solution) perfusing the lung-vessels of a toad and those of the solution (the outside solution) poured into the intrapulmonary cavity, the permeation of water through the alveolar wall as the septum was investigated, referring to the increase or decrease of the weight of the toad's lung as a sign. The results are summarized as follows:

It is confirmed that many cases coincide with the law of osmotic pressure and that perfect semipermeability of the layer of the alveolar endothelium plays a leading role. It is found, too, that negative osmosis takes place when saponine, thymol, alcohol, etc. (A group), and NaBr , NaI , CaCl_2 , LiCl , KCl , etc. (B group) are used. And then, as to the mechanism of negative osmosis, we assert that the unequivalency at both tangent and vertical directions of the membrane should be taken into consideration, and, as for the conception of the membrane, not only the membrane itself, but also various conditions of the membrane as a field should be included in it.

(Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine)

発汗器官進化学説より見たる馬の発汗について 612.792.5:599.723

On the Sweating of the Horse viewed from the Evolutional theory of Sweat organs.

中山 昭雄・高木 良雄・有村 章・上野 喬

(NAKAYAMA-Teruo・TAKAGI-Yoshio・ARIMURA-Akira・UENO-Takashi)*

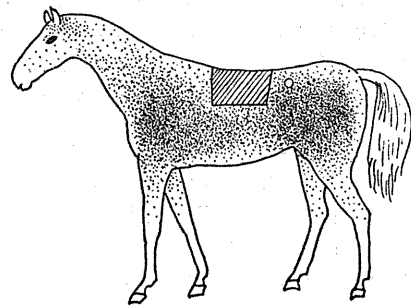
動物の汗腺が殆んどすべてアポクリン腺であることは周知の事実である。アポクリン腺の分泌速度は著しく小さく、又その分泌物は濃厚であって、これが動物の体熱放散に有効な機能をもつとは考え難い。人体はこれに反して一般体表面の汗腺はすべてエクリン腺であり、体液中最も稀薄な液を大量に分泌することが出来る。支配神経は前者は adrenergic であり、後者は cholinergic である。このように汗腺は従来アポクリン腺とエクリン腺に二大別されていたけれども、最近伊東¹⁾は組織学的研究からこの兩種汗腺の分泌機構に根本的な差はないと主張して居り、又人体エクリン腺のうち掌蹠の汗腺と一般体表面のそれとはその分布状態・分泌力・構造等に差違が認められ、胎生学的研究²⁾によっても、この兩種エクリン腺は発生時期を異にしている。これらの知見から汗腺には根本的な差はなく、アポクリン腺とエクリン腺を2つの極端としてその間に種々の移行型が存在し、主として成分々泌を行うアポクリン腺から大量の発汗を行うエクリン腺に進化したと想像される。原始的汗腺と見做されるアポクリン腺は adrenergic な神経支配を受けているが、それは同時に皮膚血管の収縮を伴うので、大量の水分子の放出には極めて不適当である。原始汗腺においては、cholinergic fiber は極めて少いものであったが、進化の過程において次第にその数を増し遂に発汗神経の大部分を占めるようになったのではなからうか。最も進化した人体のエクリン腺でもなお局所的にアドレナリンを直接汗腺細胞に作用させると発汗がおこるのは、adrenergic 支配の性が残存しているためと考えられる。このような考察から久野³⁾は発汗器官の進

化に関する学説を提唱した。

哺乳動物の中にはしかしながら必ずしも上記の一般論に合致しないものがある。例えば馬の汗腺は adrenergic 支配を受けているが、炎天下或は運動時に可成りの発汗を示すことは日常しばしば見る所であり、これが体熱の放散に関与していることは容易に想像される。進化の法則の説く所によれば進化の過程における枝別れは屢々見るものであり、馬は人体とは別箇にアポクリン腺のまゝ大量の発汗を行う独特の進化を行ったのではないかと思われる。そこで馬の発汗について 2, 3 の観察と実験を行った。

I. 汗量の部位的関係

農耕による発汗を主として観察した。軽度の発汗では検者の手掌で馬の全身に触れて湿潤度を調べ中等度の発汗では汗で黒くなった皮膚面をスケッチ又は写真記録し、更に高度の場合は汗滴が滴下するようになる。このような発汗を6段階に分けて繰返し観察記録した。第1図に点の密度で分泌速度の部位的関係を示す。分泌速度の最も大きい部位は肩・側腹部・腰側部である。側頸部・上膊・大腿外側がこれに次ぎ、



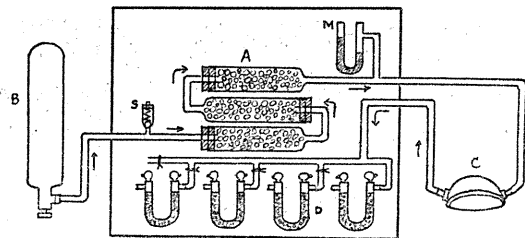
第1図 汗量の部位的関係
○印は第3図の測定部位を示す

* 名古屋大学医学部第1生理学教室

高度発汗ではこれらの部位から汗滴が滴り落ちる。次で側胸部-腰上部で、会陰部・内股は比較的よく湿潤している部位である。中等度発汗の際には耳介根部・上眼瞼・下顎下面・前胸・臀部等に僅かに発汗を認め、頬・鼻柱・肛門周囲は土で眉間・頸下面・前膊-腹下面・下腿等では殆ど発汗が認められなかった。

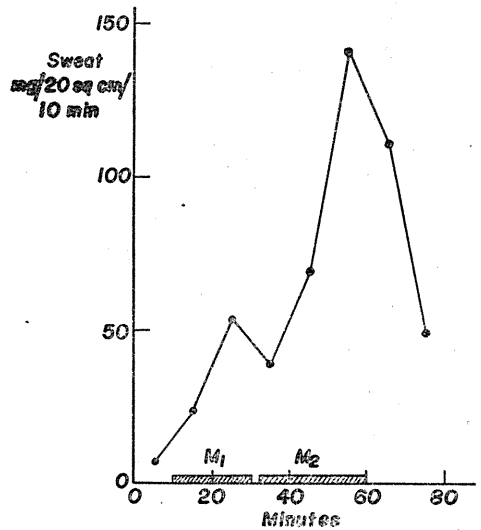
Ⅱ. 発汗曲線

発汗速度の変動を記録するには塩化カルシウム吸収法により、装置を簡略にし木製の箱に収めて携行し得る型のものとした。第2図に示す如くである。これを鞍の側に他側にガスポンペを固定した。被験部位を剃毛し洗滌乾燥させたのち、2つの側管を有するセルロイド皿(20cm²)をコロジウム液にて被験部位にはりつける。次いで乾燥用の塩化カルシウムを詰めたガラス管(A)、セルロイド皿(C)、測定用の塩化カルシウムを詰めた小さいU字管(D)の順に通過させる。通気管の途中に油圧力計(M)を使用して通過させるガスの圧が一定に保たれる様にポンペのバルブを調節する。測定用U字管は10本あり順次切換し得る。測定前にガスを通過させてセルロイド皿で覆われた皮膚面を十分乾燥させてから測定を開始した。この装置による盲検値は5mg/10min以下であった。通常10分間毎の汗量を測定した。被験部位としては馬の体動によって比較的動き難い皮膚面であって、しかも発汗量の比較的多い部位として腰側部の上方及び側頸部を選んだ。この様にして測定した1例



第2図 携行用発汗測定器

B : ポンペ, S : 安全弁, A : 乾燥用塩化カルシウム管, M : 油圧力計, C : セルロイド皿, D : U字管(吸収測定用塩化カルシウム管)



第3図 発汗曲線, 斜線は農耕を示す

9月下旬 2-4 p.m. 気温24°C. 湿度76

を示すと第3図の如くである。最初の10分間は農耕前の静止している時の汗量であって皮膚面積20cm²当り5.5mgの汗量である。次いで50分間、馬に鋤をひかせて、この間10分毎にU字管の切換えを行って汗量を測定すると発汗量は漸次増加し、農耕50分後には150mgに達した。ここで農耕を停止し、馬を静止させて更に20分間測定すると汗量は110mg, 49mgと漸次減少した。この例では発汗速度の大きい皮膚面の毛は黒く湿潤し、腰側部からは汗滴が僅かに滴る程度であったが、気温が低く且つ作業が軽い場合には発汗曲線の上昇が緩やかであり、時には15~20分の潜伏期の後に発汗が開始した。何れの場合も汗量の増加は漸進的で、又作業中止後10~20分を要して発汗が徐々に消退する。気温、気湿、気流や作業強度により発汗量は可成り変動するが、軽度発汗では50mg/10min/20cm²以下、中等度の発汗では100mg前後であった。

Ⅲ. 汗腺の組織所見

Formal 固定, Hematoxylin-eosin 染色, 又上皮剝離後 Regaud 氏液固定, Heidenhain iron hematoxylin染色, Zenker-Formal固定,



第4図

会陰部，ホルマリン固定，ヘマトキシリン-エオジン染色

Hematoxylin-eosin 或は Heidenheins iron hematoxylin 染色を行った。脾腹部，会陰部，耳介根部の皮膚汗腺を検鏡したが，これら3部の汗腺に本質的な差異は見出されなかったが，会陰部では腺体が比較的良好に発達し，又耳介根部では筋上皮を認めなかった。排泄管は毛嚢に開口し，糸球は殆んど分泌管ばかりからなり，排泄管は僅かしか認められない。分泌管は腺細胞層と筋上皮とからなっている。腺細胞の核は殆どすべて低位にあり，表層細胞と基底細胞の別は認め難い。腺細胞の腺腔端は eosin に濃染し

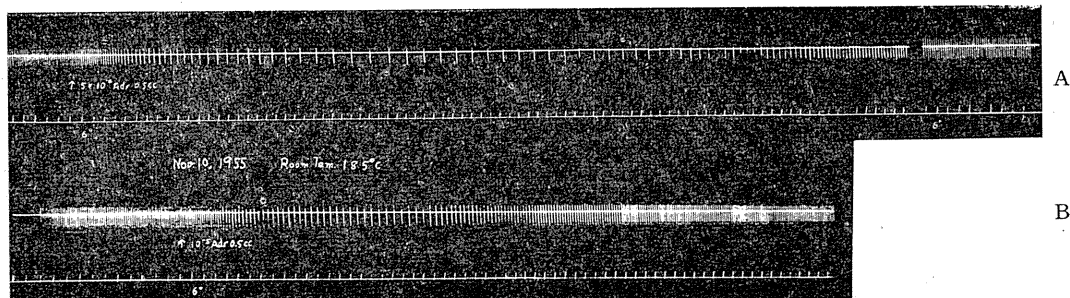
細胞質は網状を示すが，分泌顆粒はどの固定染色においても見出されなかった。屢々淡染性の舌状の不規則な突起が見られるが，これらの突起は decapitation による分泌過程の像と見るよりも，固定による細胞表層の破壊産物と思われる。

IV. アドレナリンの血管作用について

緒論に述べた如く adrenergic 支配の汗腺では，汗腺の興奮時に同時に血管収縮を伴うので，大量の水分を分泌するには極めて不都合であり，人体のエクリン汗腺は次第に cholinergic 支配を受けるようになったと推定したが，馬は前述の如くアポクリン腺を有しながら可成りの発汗を示すので，馬の皮膚血管はアドレナリンに対して反応しないのではないかという疑問が生れて来る。そこで馬の遊離耳介を灌流してアドレナリンの血管作用を観察した。

馬を撲殺後直ちに耳介を切斷し，後耳介動脈に注射器を挿入して温 Ringer 液で血液をすべて洗い出し，可及的速かに研究室に持ち帰り実験に供した。灌流法は家兎において通常行われているのと全く同一の方法で，後耳介動脈にカニューレを挿し液圧 40cm にて室温のまま Ringer 液で灌流し，流れ出る液をすべて漏斗に受け液滴を滴数計により煤紙上に記録した。アドレナリンはゴム管を通して注入した。

5×10^{-4} アドレナリン 0.5cc を注入すると約 15 秒後に滴数の減少が見られ，3 分後に滴数は最小となり次いで次第に恢復して 6 分後にはアドレナリン注入前の滴数を示した (第5図A)。



第5図 遊離耳介灌流におけるアドレナリンの影響

A : 5×10^{-4} アドレナリン 0.5cc B : 1×10^{-5} アドレナリン 0.5cc 時標 6 秒

更に稀薄な 10^{-5} アドレナリン 0.5cc を注入すると、第5図Bに見る如く注入後18秒で明らかに滴数の減少を認め、約2分後に最小となり、次で漸次滴数が増加して4分後には注入前の滴数に戻る。この濃度で兎の耳介の場合も略同様な結果を示すので Ringer 液を灌流液として用いる限り、アドレナリンが耳の皮膚血管に対し収縮作用を示すことは明らかである。

V. 考 按

Shelly & Hurley⁴⁾ は馬の汗腺は解剖学的に人体のエクリン腺と一致し、真のアポクリン腺は陰部にのみ見られると述べている。人体のエクリン腺々体部は2層の細胞からなり、又分泌顆粒が明らかに認められる¹⁾。しかしながら馬では2層の細胞の別は認められず、又どの固定染色法によっても分泌顆粒を見出すことが出来なかった。エクリン腺の腺細胞には組織化学的にグリコゲンの存在が確認され、それが腺細胞の活動と密接に関係していると云われる⁵⁾。所が馬の汗腺にはこの性質が存在しないことが最近明らかにされている⁶⁾。これらの知見からすると、もし“follicular eccrine sweating”なるものを認容したとしても、馬の汗腺は全くアポクリン腺であると結論される。

会陰部の汗腺々体は他部に比較してよく発達しているが、この部の単位面積の皮膚面の汗腺数は最も多いと云われる⁷⁾。ここは普段でも湿潤している所であるが、それは発汗速度が大きいからではなく、むしろ蒸発が妨げられるためであろうと考えられる。Shelly⁴⁾ はこの部の汗は“soapy and cloudy”であると述べている。これらの報告を考慮に入れると、馬の汗腺はすべてアポクリン腺であるけれども、機能的にはより原始的な汗腺と進化した汗腺とにわけるとも出来る。

汗量、発汗部位等からして、会陰部、内股を除く一般体表面の発汗が体熱の放散に有用であることは自明の事柄であり、その汗量は人体のそれ⁸⁾ にほぼ匹敵する程である。

耳介灌流実験の結果が示す如く、期待に反し

てアドレナリンは皮膚血管の収縮を来した。この実験に用いたアドレナリン濃度は正常血中の濃度に比較して著しく大きく見えるかもしれない。運動後の馬の静脈血中のアドレナリン濃度は 10^{-6} /litre 程度である⁹⁾。この実験では添加したアドレナリンは灌流液によって更に稀釈され、又実験が遊離耳介、室温で行われているので、この濃度の差は見かけ程大きくないと思われる。しかし灌流液として馬の血液を用いなかったので果してアドレナリンは皮膚血管を収縮するかなお若干の疑問が残る。

汗腺が水分を放出するために多量の血液が局所に供給されることは勿論望ましいことであり、事実人体のエクリン腺は豊富な毛細血管網によって取囲まれている。馬の汗腺について、この点は未だ明らかではないが、アポクリン腺でありながら何故このように大量の発汗を行うことが出来るのか現在の所全く不明である。

馬の汗の Cl 濃度は著者等が現在までに行った実験では、すべて人体の最高発汗時の Cl 濃度よりも更に高く、ほぼ血液中 Cl 濃度に等しい値が得られている。このことは発汗本来の目的—水分放出による体熱の放散—から見れば馬のアポクリン腺は大量の水分を放出し得るけれども、生体に有用な物質をも多量に失う点において、機能的に人体のエクリン腺よりも不完全なものである。

以上を要約すると、馬の汗腺は“発汗器官の進化に関する法則”に対して例外的位置を占めるものと云うことが出来よう。

VI. 結 論

馬の発汗について

1) 発汗速度の最も大きい部位は肩・側腹・腰側部で、側頸部・上膊大腿外側がこれに次ぐ。

2) 汗量は軽度及中等度の発汗では、それぞれ平均50, 100mg/20cm²/10min 程度であった。

3) 組織学的に馬の汗腺はすべてアポクリン腺である。

4) 遊離耳介の Ringer 液灌流ではアドレナリンは皮膚血管の収縮を来す。

5) 発汗器官進化学説に対し、馬は例外的位置を占めるものと考えられる。

久野寧名誉教授の御指導を感謝致します。組織所見について大阪府大高木俊蔵教授の御教示を頂きました。この実験の便を与えられ御援助頂いた愛知県追進農場の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 伊東俊夫 (1949) 汗腺の組織学と細胞学 医学の進歩 第6集
- 2) 福木 晟 : (未発表)
- 3) Kuno, Y. (1956) Human Perspiration. P. 52
- 4) Shelley, W. B. & H. J. Hurley, S. Rothman (1954) Physiology and Biochemistry of the Skin P. 185 より引用
- 5) Shelley, W. B. & H. Mescon (1952) Histochemical demonstrations of secretory activity in human eccrine sweat glands, J. Invest. Dermat. 18, 289
- 6) 高木俊蔵 (1956) 私信
- 7) 佐々木正夫 (1944) 馬の皮膚に関する研究 1. 表皮並びに皮腺に就いて 総合獣医誌 1, 168
- 8) Kuno, Y. (1934) The Physiology of Human Perspiration.
- 9) Evans, C. L., D. F. G. Smith & H. Weil-Malherve (1955) The adrenaline and noradrenaline of venous blood of the horse before and after exercise. J. Physiol. 128, 50

Summary

The sweating of the horse was observed.

- 1) The sweat gland of the horse is entirely apocrine in type.
- 2) The rate of sweating was highest at shoulder, lateral parts of abdomen and haunch, moderate at lateral parts of neck, thigh and brachium.
- 3) Sweat volumes per 20 sq. cm. per 10 min. were in average 50 and 100 mg. in low and moderate sweating respectively.
- 4) Adrenaline could cause vasoconstriction of the skin vessel so long as Ringer solution was used as perfusate.
- 5) From the "theory on the evolution of sweat organs", the horse occupied a exceptional position.

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

赤血球内容のpH測定について 612.111:612.121.2

(第I編) 赤血球内容, 血漿, Heparin, NaF, Saponin, Evans Blue の緩衝価

The pH determination of the Contents of Erythrocytes.

I. Preliminary experiment: Measurement of the Buffer values of the Contents of Erythrocytes, Plasma, Heparin, Sodium fluoride, Saponin and Evans Blue.

西 田 悦 郎 (NISHIDA-Etsuro)*

I. 緒 言

生体の酸塩基平衡に関する研究は従来主として血漿その他の細胞外液について行われていて, 細胞内容についての観察は少く, 従ってこの領域に関する吾々の知見は比較的乏しい. 併し, 細胞内の酸塩基平衡は外液のそれより, 細胞機能に及ぼす影響はより直接的であるから, 両者の関係は緊密, 単純なものと推測され, 吾々にとって興味ある研究領域である. 著者は細胞内容の酸塩基平衡に関する研究の着手として赤血球内容のpH測定と, その値が媒質のpHに依って如何なる影響を受けるかを検討することにした. その予備実験として赤血球内容および血漿等の緩衝価を決定すると共に, これ等pHの測定に際して加えられる諸種の試薬により導入される誤差の可能性を精細に吟味した.

即ち, 著者の採用しようとする赤血球内容のpH測定法の概要は次の通りである.

Heparin 加血液に NaF を加えて解糖を阻止し, 遠心分離で得られる赤血球粥に Saponin を加えて溶血しその pH を測定して赤血球内容の pH とする.

この際血液に加えられる Heparin, NaF, Saponin, Evans Blue 等の溶液の pH は予め 7.4 附近に修正して用うるのは当然であるが, 厳密には血漿なり赤血球内容の pH と等しくないから, これら溶液の混入により血漿および赤血球内容の pH に誤差を導入する可能性が考えられる.

又, 赤血球粥には若干の血漿が含まれることは避け難く, 赤血球内容と血漿の pH に若干の

相違があると考えられているから, ここにも赤血球内容 pH 測定に誤差を導入する可能性が一応考えられる. pH の異った液体を混合して生ずる混合液の pH は, 夫々の液体の混合量, pH 及び緩衝価 (Buffer value, Van Slyke) によって決定する. そこで著者の企図する赤血球内容 pH 測定法に於いて, 赤血球内容に混入する血漿その他の諸試薬及び赤血球内容の緩衝価を個々に実測し, 本法に附随する誤差の大きさを理論的に算出し吟味しようとするのが本研究の目的である.

II. 緩 衝 価 の 測 定

A. Heparin, NaF, Saponin, Evans Blue 各溶液の緩衝価 (Buffer Value)

実験方法

緩衝価 (被検液 1l の pH を 1 だけ変化せしめるに要する強酸又は強塩基の量) の測定は, Heparin では Ampoule 入の 1% Heparin Na 溶液を 0.9% NaCl 溶液で稀釈した 0.2% Heparin 溶液について, NaF は 1% 水溶液, Saponin (Merck) は 10% 水溶液について夫々測定し, Evans Blue は 0.07% 水溶液について測定し, これより 1% 溶液の値を算出した.

一定量の被検液に 0.1N NaOH 又は 0.1N HCl を滴加しその pH を室温 (10~18°C) で測定し, その加えた酸, 或はアルカリの量と pH の変動の関係を表す滴定曲線を描き, その曲線から任意の pH における緩衝価を求めた. pH 測定には当教室作製の管型ガラス電極¹⁾を使用した. この電極を使用すれば試料は微量ですみ, 且つ試料と空気との接触は極めて少く, 測定誤差は

* 金沢大学医学部第1生理学教室

0.01~0.02pHに止る.

実験成績

緩衝価は第1表に示す如く、0.2% Heparin溶液はpH 6~8の範囲においては0.3~0.4 mEq/Lであり、1%NaF 水溶液はpH 7.0~8.5の間では1.5~0.5 mEq/Lであるが、pHが低下すると緩衝価は次第に大きくなり、pH 6.5附近では平均35mEq/Lとなった。10% Saponin 水溶液はpH 6.5~8.0の間では1.0~1.6mEq/Lであった。1% Evans Blue 溶液はpH 6.0~7.4の間では0.8~1.3 mEq/Lであり、pHの上昇に伴って緩衝価は次第に大きくなり pH 7.8では平均3.8mEq/Lであった。

第1表 Heparin, NaF, Saponin, Evans Blue 各溶液の緩衝価

pH \ 被検液 (例数)	0.2% Heparin (6)		1% NaF (5)		10% Saponin (5)		1% Evans Blue (3)	
	(単位 mEq/L)							
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
6.0	0.27	0.04	—	—	—	—	0.82	0.06
6.2	0.27	0.05	—	—	—	—	0.87	0.03
6.4	0.29	0.08	—	—	1.79	0.31	0.83	0.01
6.6	0.28	0.06	35.10	18.10	1.44	0.28	0.82	0.03
6.8	0.29	0.07	6.00	0.70	1.45	0.11	0.87	0.06
7.0	0.28	0.08	1.29	0.23	1.36	0.15	1.03	0.06
7.2	0.26	0.07	0.80	0.13	1.06	0.18	1.28	0.09
7.4	0.25	0.08	0.60	0.14	1.07	0.06	1.33	0.10
7.6	0.28	0.07	0.52	0.06	1.04	0.16	2.29	0.23
7.7	0.30	0.08	0.52	0.05	1.16	0.17	2.73	0.48
7.8	0.33	0.09	0.50	0.04	1.22	0.39	3.81	0.50
8.0	0.41	0.11	0.47	0.05	1.62	0.37	—	—
8.2	—	—	0.48	0.05	—	—	—	—
8.4	—	—	0.47	0.04	—	—	—	—
8.6	—	—	0.52	0.01	—	—	—	—

pH測定温度、室温 (10~18°C)

B. 血漿の緩衝価

血漿、血清および血液の緩衝価については、Van Slyke et al.²⁾の研究を初めとして、河野³⁾、Waitz⁴⁾、Gex⁵⁾等の報告がある。Van Slyke は馬の血液の緩衝価はpH 7.2~7.5の範囲で24.4~25.3 mEq/Lであると報告し、河野は馬の血漿の緩衝価はpH 7.4~7.5の範囲で10.3~12.6mEq/Lであると述べている。

吾々は家兎および人血漿の緩衝価を正確に測定する目的で次の実験を行った。

実験方法

死腔をpH 7.4の0.2% Heparin 溶液でみたした注射器を用いて家兎心穿刺血液又は人肘静脈血液15mlを空気と接触せしめる事なく採取し、流動パラフィン入遠心管にうつし、3,000~4,000 r. p. m., 半径14cmで20分間遠心して血漿を分離した。又、予め小試験管5本に0.01N, 0.02NのHClおよび0.01N, 0.02NのNaOH (その都度0.1Nのものより調製)、及び0.9% NaClを各々0.1mlずつ入れ、上に流動パラフィンを重畳しておき、これに遠心分離して得た血漿をツベルクリン注射器で正確に0.1mlずつ加え、ガラス棒で充分攪拌混和して直ちにpHを室温 (15~

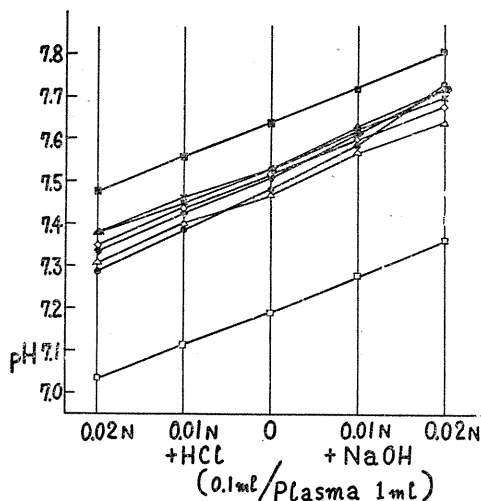
20°C) で測定した。流動パラフィンは血漿の上に3cm以上の厚さに重ねた。

なお血漿上に3cm以上の厚さに流動パラフィンを重ねこれを静置して保存する場合、5~25°Cにおいては3~5時間の間は血漿pHは変動しない事を予め確めた。又、38°Cに1~2時間保存した場合

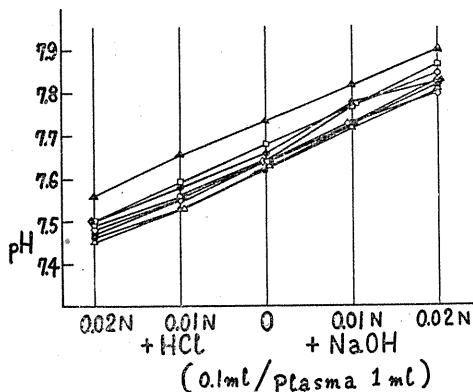
は0.01~0.02 pHのpH上昇がみられた。

緩衝価の算出に際しては、0.9% NaClを加えた血漿のpHと、0.01N NaOHを加えた血漿のpHとから算出される緩衝価を $\beta p. base$ とし、0.01N HClを加えた血漿とから算出される緩衝価を $\beta p. acid$ とし、 $\beta p. base$ と $\beta p. acid$ との平均を $\beta p. norm.$ として正常血漿の緩衝価とみなした。この $\beta p. norm.$ に対応するpHは $\beta p. base$ と $\beta p. acid$ の両者のpHを平均して求めた。

試料中に混入するHeparin溶液に基づく誤差



第1図 家兎血漿の滴定曲線 (15~20°C)
(酸およびアルカリは血漿 1ml に 0.1ml 添加)



第2図 人血漿の滴定曲線 (15~20°C)
(酸およびアルカリは血漿 1ml に 0.1ml 添加)

第2表A 血漿の緩衝価 (単位 mEq/L)

家 兎 血 漿				人 血 漿			
No.	$\beta_{p.acid}$	$\beta_{p.base}$	$\beta_{p.norm.}$	No. (供血者)	$\beta_{p.acid}$	$\beta_{p.base}$	$\beta_{p.norm.}$
1	11.0	9.5	10.2	1 (Y.K.)	11.5	9.9	10.7
2	12.9	12.3	12.6	2 (Y.H.)	11.5	11.5	11.5
3	13.9	11.0	12.4	3 (O.O.)	13.0	13.0	13.0
4	13.9	12.3	13.2	4 (E.N.)	13.0	11.5	12.3
5	13.9	12.3	13.2	5 (M.I.)	13.0	9.9	11.5
6	12.9	12.3	12.6	6 (Y.O.)	13.3	11.5	12.4
7	12.3	12.9	12.6	7 (Y.E.)	10.4	11.5	11.0
8	11.6	10.4	11.0	8 (T.Y.)	11.5	11.5	11.5
平均値 (pH)	{ 12.8 (7.44)	{ 11.6 (7.53)	{ 12.2 (7.49)		{ 12.2 (7.61)	{ 11.3 (7.71)	{ 11.7 (7.66)
信頼限界 (危険率 1%)	11.4~ 14.2	10.1~ 13.1	10.9~ 13.5		10.9~ 13.5	10.1~ 12.5	10.7~ 12.7

pH測定温度, 室温 (15~20°C)

は, 次式に従って補正し, 原血漿の緩衝価を求めた.

$$\beta_D = \left(\beta_{D+M} - \frac{m}{100} \times \beta_M \right) \times \frac{100}{100-m} \dots\dots(1)$$

但し, β_D : 求めんとする被検液の緩衝価.

β_{D+M} : 被検液に他の液の混入したもの
の緩衝価.

β_M : 混入液の緩衝価.

m : 混入液の混入率 (%)

本実験に於ては m 即ち Heparin 溶液の混入量は平均試料の 4% であった.

実験成績

家兎および人血漿の滴定曲線は第1, 2図に示す如くであり, 血漿の正常pH値附近では, 略々直線をなしている. これらより求められた緩衝価は第2表-Aに示すようになる.

家兎の $\beta_{p.acid}$ は平均 12.8mEq/L (信頼限界 [危険率 1%, 以下同様] は 11.4~14.2mEq/L; 以下 F.L. と略記す), $\beta_{p.base}$ は 11.6mEq/L (F.L. 10.1~13.1mEq/L), $\beta_{p.norm.}$ は 12.2mEq/L (F.L. 10.9~13.5mEq/L) であり, 人の $\beta_{p.acid}$ は 12.2mEq/L (F.L. 10.9~13.5mEq/L), $\beta_{p.base}$ は 11.3mEq/L (F.L. 10.1~12.5mEq/L), $\beta_{p.norm.}$ は 11.7mEq/L (F.L. 10.7~12.7mEq/L) であった.

(補) なお, 更に正常pH範囲外のpHにおける血漿の緩衝価を知る目的で, 人血漿を 0.1N HCl および 0.1N NaOH で滴定した. 即ち, 一系列の試験管に 0.1N HCl 又は 0.1N NaOH を 0.02ml

間隔で漸次増量して加え, 更に流動パラフィンを重ねた. これに人血漿を 1ml ずつ分注しガラス棒で攪拌した後, 室温 (20°C) で pH を測定した. その結果から得られた滴定曲線より血漿の緩衝価を計算して, 第2表Bの結果を得た. 即ち, pH の低下に伴って人血漿の緩衝価は次第に増大

第 2 表 B

各 pH における人血漿の緩衝価 (単位 mEq/L)

pH	平均値 (4 例平均)	標準偏差
6.6	21.1	2.37
6.8	16.6	2.01
7.0	14.9	1.03
7.2	13.9	0.81
7.4	13.5	0.82
7.6*	11.8	0.64
7.8	10.6	0.25
8.0	9.2	0.73
8.2	8.3	0.59

pH 測定温度：室温 (20~22°C)

* 正常血漿の pH の平均値は 7.6 (20~22°C において)

し、pH 6.6 では 21mEq/L であり、又、pH の上昇に伴って緩衝価は減少し pH 8.2 に於いては 8mEq/L であった。

C. 赤血球内容の緩衝価

実験方法

1) 家兎心穿刺血赤血球内容の緩衝価の測定方法

予め遠心管に、0.7%NaF 水溶液に Evans Blue を 1% の濃度に溶解し pH を 7.4 に補正した溶液を 4ml 入れ、その上に流動パラフィンを重ねておき、これに Heparin 加心穿刺血液 20ml を混じ、ガラス棒で充分攪拌混和した。これを室温 (15~20°C) に於いて 3,500~4,000r. p. m., 半径 14cm で 30 分間遠心し、赤血球を血漿から分離した。分離した血漿 (Heparin, NaF, Evans Blue 混入) は注射器にとり、その中 1ml は Evans Blue 量の測定 (3 に記載) に用い、他は前記 B の如くにしてその緩衝価を測定した。次で赤血球粥の上層に残っている血漿および白血球層をスポイトで充分除去した。次にツベルクリン注射器で赤血球粥を 1ml とり Evans Blue 量の測定に供した。残余の赤血球粥は別の注射器にとり、次で pH 7.4 の 10% Saponin 水溶液を赤血球粥の 1/10 容吸引し、更に、水で洗滌し乾燥した水銀を適当量吸引して振盪し、赤血球と Saponin とを注射器内で充分混和し溶血を完了せしめた。又、予め 4 本の試験管を用意し、内 2 本には 0.1N HCl, 0.1N NaOH を 0.1ml ずつ、他の 2 本には 0.2ml ずつ入れ、流動パラフ

インを重ねておく。これに溶血した赤血球粥を正確に 1.0ml ずつ加えガラス棒で充分攪拌混和して、直ちに注射器内の残余の溶血赤血球と共に室温 (15~20°C) に於いて pH を測定した。これらの操作はすべて気密に行い、又、試料の取扱い特にガラス電極管に収容するに際してはこれに陰圧が働くのを避けた。

測定した pH 値から血漿の場合の如くにして赤血球内容の緩衝価 β_E , acid, β_E , base, β_E , norm. を算出した。なお、Saponin 等の混入に基づく誤差は前出第 1 式に従って補正した。即ち、先ず第 1 式の β_{D+M} を溶血赤血球粥 (血漿, Saponin 等混入) の緩衝価測定, β_M を Saponin の緩衝価, m を 9.1 (%) として、血漿 (Heparin, NaF, Evans Blue 混入) の混入した赤血球内容の緩衝価 β_D を求めた。次に、 β_{D+M} を血漿の混入した赤血球内容の緩衝価, β_M を血漿 (Heparin, NaF, Evans Blue 混入) の緩衝価測定値, m を Inter cellular Plasma 量として赤血球内容の緩衝価 β_D を求めた。

2) 人肘静脈赤血球内容の緩衝価測定方法

全操作を解糖を起す危険の殆どない低い室温で行い、NaF の添加を省略して測定を行った。使用する器具、試薬、採血後の血液等は出来るだけ氷室 (4~6°C) 内に保存した。Heparin (pH 7.4) を加えた人肘静脈血液を 20ml とり、うち 5ml を 10% Evans Blue 水溶液 0.1ml を盛った遠心管に分注し、他は流動パラフィンを入れた別の遠心管に移した。前者の血液をガラス棒で攪拌して Evans Blue と充分混合させた後、両遠心管を室温に於いて同時に、3,500~4,000r. p. m., 半径 14cm で 30 分間遠心し赤血球を血漿から分離した。流動パラフィン下の血液については家兎の場合と同様に操作して pH を測定し、緩衝価を求めた。又、Evans Blue を混じた血液は Inter cellular Plasma 量の測定に供し、その値を以て流動パラフィン下の血液のそれとみなした。

3) Inter cellular Plasma 量の測定

Heparin 加血液 5 容に、1% の割合に Evans Blue を溶解した 0.7% NaF 水溶液を 1 容混じて

充分混和した後、遠心 (3,500~4,000r. p. m., 半径 14cm, 30分間) して赤血球を血漿より分離した。遠心して得た血漿 1ml を蒸留水で 250 倍に稀釈した。次で赤血球粥の上層に残っている血漿及び白血球層を充分除去し、ツベルクリン注射器で 1ml の赤血球粥をとり、これを 0.9% NaCl 溶液の盛ってある遠心管に移した。この赤血球を 2 回遠心洗滌 (2,500~3,000r. p. m., 半径 14cm, 5~10分間) してその上清を 25ml のメスコルペンに集め蒸留水を画線まで加えて混和した。この両者について蒸留水を Blank として、Beckman 型 Spectrophotometer ($\lambda=624m\mu$), 或いは光电比色計 (Filter: Orange) を使用し、次式から Intercellular Plasma 量を算出した。

Intercellular Plasma (%) =

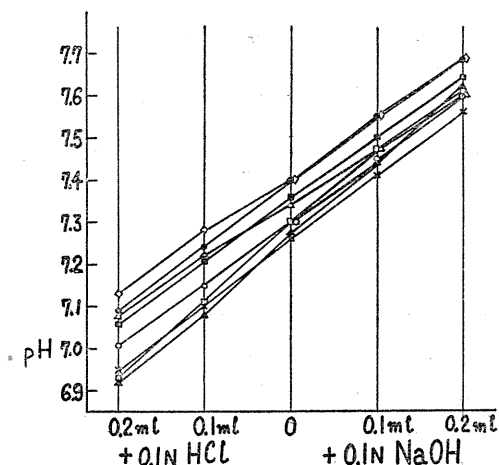
$$\frac{\text{赤血球洗滌上清の吸光度} \times 25}{\text{血漿稀釈液の吸光度} \times 250} \times 100 \dots\dots (2)$$

これらの稀釈液が混濁している場合はそれらを遠心した後比色した。この様な実験条件下で蒸留水を Blank として比色した場合は、極端な溶血のない限りこれらの溶液は大体 Lambert-Beer の法則に従うことを予め確めた。

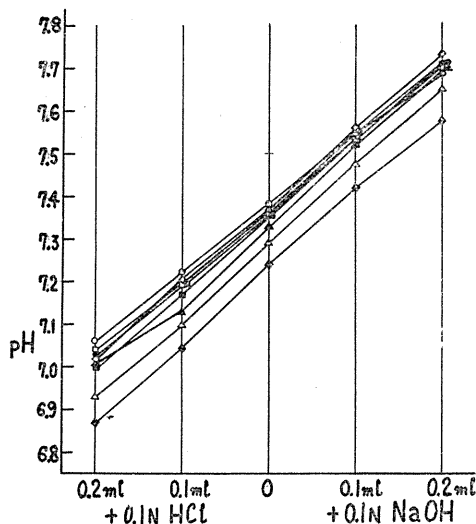
この様にして測定した Intercellular Plasma 量の平均は家兎では 4.6% (F. L. 3.8~5.4%), 人では 3.0% (F. L. 2.2~3.8%) であり、諸研究者⁶⁾⁷⁾⁸⁾の求めた値と略々一致している。

実験成績

家兎および人体血球内容 (血漿, Saponin 混入) の滴定曲線は第 3, 4 図に示す様になり、赤血球内容の正常 pH 値附近では略々直線をしている。赤血球内容の緩衝価は第 3 表に示すようになる。即ち家兎の $\beta_{E, acid}$ は平均 74.1 mEq/L (F. L. 62.4~85.8mEq/L), $\beta_{E, base}$ は 77.8mEq/L (F. L. 69.3~86.3mEq/L), $\beta_{E, norm.}$ は 75.9mEq/L (F. L. 66.4~85.4mEq/L) であった。これらの数値間に有意な差は認められない。家兎血漿の緩衝価は平均 12.2mEq/L であるから、赤血球内容のそれは血漿の約 6.2 倍に当る。人の $\beta_{E, acid}$ は平均 61.8mEq/L (F. L. 55.1~68.5mEq/L), $\beta_{E, base}$ は 61.1mEq/L (F. L. 56.6~65.6mEq/L), $\beta_{E, norm.}$ は 61.5mEq/L (F. L. 57.1~65.9mEq/L) であった。これらの



第 3 図 家兎赤血球内容の滴定曲線 (15~20°C)
(横軸は Saponin 溶血赤血球 1ml に加えた酸およびアルカリの量)



第 4 図 人赤血球内容の滴定曲線 (15~20°C)
(横軸は Saponin 溶血赤血球 1ml に加えた酸およびアルカリの量)

数値間に有意な差は認められない。人血漿の緩衝価は平均 11.7mEq/L であるから、赤血球内容のそれは血漿の約 5.3 倍に当る。

Ⅲ. 考 按

I に略述した方法によって赤血球内容の pH を測定する場合、これに混入してくる溶液の pH が赤血球内容の pH に等しければ、測定値を以て直ちに赤血球内容の pH とすることが出来るが、普通は若干の相違を生ずる。斯る際

第3表 赤血球内容の緩衝価 (単位 mEq/L)

家兎赤血球内容				人赤血球内容			
No.	β_E . acid	β_E . base	β_E . norm	No. 供血者	β_E . acid	β_E . base	β_E . norm
1	73.9	81.9	77.9	1 (Y. K.)	62.1	62.1	62.1
2	61.2	73.6	67.4	2 (Y. H.)	58.8	64.3	61.6
3	87.9	87.9	87.9	3 (O. O.)	59.0	54.2	56.6
4	84.9	81.7	83.3	4 (E. N.)	56.3	62.0	59.2
5	78.0	75.9	77.0	5 (M. I.)	70.2	62.2	66.2
6	74.8	80.0	77.4	6 (Y. O.)	65.8	65.8	65.8
7	65.0	65.0	65.0	7 (Y. F.)	56.0	59.1	57.6
8	67.0	76.1	71.6	8 (T. Y.)	66.1	59.2	62.7
平均値	74.1	77.8	75.9		61.8	61.1	61.5
pH	(7.25)	(7.41)	(7.33)		(7.24)	(7.44)	(7.34)
信頼限界 (危険率 1%)	62.4~ 85.8	69.3~ 86.3	66.4~ 85.4		55.1~ 68.5	56.6~ 65.6	57.1~ 65.9

pH 測定温度, 室温 (15~20°C)

には混入する液の量とその緩衝能が分っておれば, 次式に依って測定値より真の赤血球内容の pH を算出する事が出来る. 又, 血漿に他の溶液が混入した場合も同様にして, 次式から諸液の混入に基づく誤差を補正する事が出来る.

$$pH_D = pH_{D+M} - (pH_M - pH_{D+M}) \times \frac{\beta_M \times V_M}{\beta_D \times V_D} \dots (3)$$

pH_D : 求めんとする被検液の pH.

β_D : 求めんとする被検液の緩衝価.

V_D : 求めんとする被検液の容量.

pH_{D+M} : 被検液に他の液の混入したものの pH.

pH_M : 混入液の H_p .

β_M : 混入液の緩衝価.

V_M : 混入液の容量.

但し, この際, 稀釈による pH の変動は考慮に入れていない.

血漿に Heparin の混入した場合は, 血漿, Heparin の略号をそれぞれ P, H とすれば第3式の D を P に, M を H に変えればよい. 今上述の実験成績により $\beta_P = 12 \text{ mEq/L}$, $\beta_H = 0.3 \text{ mEq/L}$ とし, 又 $V_P = 100$, $V_H = 5$ とすれば, 第3式の第2項は $pH_H - pH_{P+H}$ が 8 pH となった時漸く 0.01 pH となる. 即ち実験に際して生ずる 0.2~0.3 pH の場合の差には第2項を全く無視して差支えないことが分る.

血漿に NaF を混じた場合は, NaF の略号を F とすれば, 第3式の D, M を P, F とすればよく, $\beta_F = 0.6 \text{ mEq/L}$ であるから, 今, $V_P = 100$,

$V_H = 40$ とすれば $pH_F -$

pH_{P+F} が 0.5 pH とな

ったとき漸く第2項が

0.01 pH となる. 従っ

てこの場合も実験に際

して第2項を無視して

差支えない.

即ち本実験の様に第

2項が, 0.01 pH 以下

となる様な条件の下で

は, Heparin, NaF の

混入した血漿 pH 測定

値を以って, 血漿自体

の pH と做しても差支えない.

赤血球内容に Saponin が混入した場合は, 赤血球内容, Saponin の略号をそれぞれ E, S とし第3式の D, M に代入し, $\beta_E = 60 \text{ mEq/L}$, $\beta_S = 1 \text{ mEq/L}$, $V_E = 100$, $V_S = 10$ とすれば, 第3式第2項は $pH_S - pH_{E+S}$ が 6 pH となった時漸く 0.01 pH となる. 従って実験に際して第2項を無視しても差支えない.

赤血球内容に血漿が混入した場合は, $\beta_E = 60 \text{ mEq/L}$, $\beta_P = 12 \text{ mEq/L}$, $V_E = 95$, $V_P = 5$ とすれば, 第3式第2項は $pH_P - pH_{E+P}$ が 1.0 pH となった時漸く 0.01 pH となる. 一般に $pH_P - pH_{E+P}$ は 0.1~0.2 pH であろうから, この場合も第2項を無視して差支えない. 又, 赤血球内容 pH と血漿 pH との差を 0.2 pH と仮定すると, Inter-cellular Plasma 量が 20% あっても, これによる溶血赤血球内容の pH の変動は 0.01 pH 程度に過ぎないことが分る.

尚, Heparin, Saponin 溶液は冷蔵しても時日をへるに従って pH は低下し, その pH 修正を何回も繰返すと緩衝価が次第に増大する傾向を示す. 又, NaF は時日をへるに従って, 雲絮状の沈澱を生ずる事があるので, これらの溶液はなるべく新しいものを使用するのが望ましい.

上述の実験結果から吾々は下記の測定方法によって赤血球内容 pH を正確に測定し得るであろうことを知った. 即ち 0.2% Heparin 溶液を血液の 1/25 容混じて採血し, その血液に血液

の 1/5 容の 0.7% NaF 水溶液 (pH 7.4 に修正) を添加し、充分混和した後、3,000~4,000r. p. m., 半径 14~15cm で 20 分間遠心する。遠心後、赤血球粥にその 1/10 容の 10% Saponin 水溶液を加えて溶血せしめ、その pH を測定する。なお、すべての操作は気密に行う。この様にして測定した pH を赤血球内容 pH とする。

IV. 要 約

赤血球内容の pH を正確に測定する方法を企画し、その測定法に導入される誤差を検討する目的で先ず、人および家兎の赤血球内容、血漿の緩衝価、及び Heparin, NaF, Saponin, Evans Blue 各溶液の緩衝価を測定した。

赤血球内容の正常 pH 値附近における緩衝価は人では 61.5mEq/L 家兎では 75.9mEq/L であり、血漿のそれは人では 11.7mEq/L 家兎では 12.2mEq/L であった。又、各試薬の、pH 7.4 附近における緩衝価は 0.2% Heparin は 0.3mEq/L 1% NaF は 0.6mEq/L、10% Saponin は 1.1mEq/L 1% Evans Blue は 1.3mEq/L であった。即ち赤血球内容の緩衝価は血漿および各試薬の緩衝価に比して極めて大きな値を示している。

なお、血液を遠心 (3,500~4,000r. p. m., 半径 14cm, 30 分間) して得られる赤血球粥の Inter-cellular Plasma 量を Evans Blue を使用して測定し、人では平均 3.0% の値を得た。

これらの結果から吾々の計画する赤血球内容 pH 測定法によって赤血球内容 pH を正確に測定し得ることを知った。

文 献

- 1) 斎藤幸一郎・本田良行 (1955) 微量ガラス電極による血液 pH およびその温度係数の測定 日新医学 42, 167
- 2) Van Slyke, D. D. et al. (1922) Studies of gas and electrolyte equilibria. J. Biol. Chem. 54, 507
- 3) 河野純三 (1934) 血液の緩衝価について 京都医学誌 31, 567
- 4) Waitz, R. et al. (1943) Changes in the buffer coefficient curves of the serum in diseases affecting the blood. Arch. Physiol. Biol. 16, No. 5, Suppl. 1-2, (Chemical Abstracts, 40, 1583, 9)
- 5) Gex, M. (1943) Interpretation of serum buffer coefficient curves. Arch. Physiol. Biol. 16, No. 5 Suppl. 22-4, (Chemical Abstracts, 40, 1584, 1)
- 6) Gregersen, M. I. et al. (1950) Direct comparison in dogs of plasma volume measured with T-1824 and with antigens. Am. J. Physiol. 163, 517
- 7) Jackson, D. M. et al. (1951) Inter-cellular plasma and its effect on absolute red cell volume determination. J. Physiol. 115, 196
- 8) Maizels, M. (1952) Inter-cellular plasma of centrifuged human erythrocytes. J. Physiol. 116, 38Pr

Summary

A method for pH determination of the contents of erythrocytes was devised by the present author. The outline of the procedure is as follows: venous blood is drawn anaerobically into a syringe which is previously filled with a quantity of heparin solution, and mixed with one-fifth volume of isotonic, 0.7 percent, sodium fluoride solution to prevent glycolysis. Packed erythrocytes, obtained by centrifuging the blood sample, is hemolyzed by admixing one-tenth volume of 10 percent saponin solution with it. The contents of erythrocytes thus obtained is introduced to a tubular glass electrode for pH measurement. In order to ascertain the availability of the method, the buffer values of the reagents to be used in the procedure, blood plasma and the contents of erythrocytes were measured and the following values were obtained:

The contents of human erythrocytes	61.5mE/L	0.2% Heparin (at pH 7.4)	0.3mE/L
The contents of rabbit erythrocytes	75.9mE/L	1% NaF (at pH 7.4)	0.6mE/L
Human plasma	11.7mE/L	10% Saponin (at pH 7.4)	1.1mE/L
Rabbit plasma	12.2mE/L	1% Evans Blue (at pH 7.4)	1.3mE/L

Evans Blue was used for measuring the quantity of intercellular plasma in the packed erythrocytes.

Judging from these results, the method proved to give sufficiently reliable results if the pH of the reagents was previously adjusted to about 7.4.

(from 1st Department of Physiology, School of Medicine, Kizawa University)

赤血球内容のpH測定について 612.111:612.121.2

(第Ⅱ編) 赤血球内容のpHおよびその温度係数

The pH determination of the Contents of Erythrocytes.

Ⅱ. The pH of the Contents of Human Erythrocytes
and its Temperature Coefficients.

西 田 悦 郎 (NISHIDA-Etsuro)*

I. 緒 言

第Ⅰ編¹⁾に於いて吾々の計画する赤血球内容のpH測定法を述べ、試料となる赤血球内容に混入される諸試薬および血漿の緩衝能を各個に計測し、赤血球内容、および血漿のpH測定に際してこれらに混入される混入物によって生ずる誤差の可能性を吟味した。その結果適当な注意を払えばこれら混入物が赤血球内容のpHおよび血漿pHを変動せしめる危険は充分防止し得ることを確証した。

本編に於いては先ず赤血球内容のpH測定に附随する諸種の操作が試料のpHに及ぼす影響の有無を実験的に確め、次で吾々の最も正確と信ずる方法によって実測した赤血球内容のpHおよびこれと血漿pHとの差、その他について述べる。

Ⅱ. 実験方法に対する検討

A. 稀釈が血漿pHに及ぼす影響

NaF溶液等を血液に添加すると、血漿はそれらの混入液によって稀釈される。この稀釈が血漿pHに及ぼす影響を、家兎血漿を蒸溜水で稀釈して調べた。

中村²⁾は、牛血清にその30%の蒸溜水を加えてもそのpHは変化しないが、それ以上加えるとpHは次第に低下すると報告している。

実験方法および実験成績

予め小試験管9本に蒸溜水を0.1mlから0.9mlまで0.1ml間隔で盛り、その上に流動パラフィンを重ねておく。次いでHeparin加家兎心穿刺

血液流動パラフィン下で遠心分離して得た血漿を、ツベルクリン注射器でこれらの蒸溜水に加え、全量が1.0mlになるようにした。これをガラス棒で充分攪拌混和して、血漿、蒸溜水と共にpHを37.5°Cで測定した。pH測定には当教室作製の管型ガラス電極³⁾を使用した。実験結果は第1表のようになる。即ち、血漿量が全体の90%となるとpHは真の血漿pHより0.01~0.02pHだけ上昇し、血漿量が全体の70%となるまで略々その値を保ち、さらに血漿量が全体の60%以下となると、血漿含有量の低下に伴ってpHは次第に上昇した。即ち、血漿量が全体の70%までは大体誤差範囲内のpH変動しか起らなかった。この実験では蒸溜水のpHが血漿pHより高いが、蒸溜水の緩衝能は血漿のそれに比して極めて小さいから蒸溜水のpHは考慮に入れる必要はない。

B. NaF溶液が血液および血漿のpHに及ぼす影響

解糖を阻止するに充分なNaF量については、Havard et al.⁴⁾は終末濃度0.02%で大体充分であると述べており、吉村⁵⁾は0.06%以下を使用したと報告しており、又、中山⁶⁾は0.1%以上でないと充分でないと報告している。

また、NaFが血液pHに及ぼす影響については、吉村⁷⁾は1%NaF溶液又は2%NaF・1%乳酸カリ混液を血液に1:9の割合で混じても血液pHは変動しないと報告している。

吾々は赤血球内容pH測定法に於いて、血液1容に等張0.7%NaF溶液を1/5容加えて(NaF終末濃度0.14%)解糖を阻止することとしたが、このNaFの添加が、血液および血漿のpHに及ぼす影響を検討するために次の実験

* 金沢大学医学部第1生理学教室

第1表 稀釈の血漿 pH におよぼす影響

No.	血漿混入率(%)	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0 (Aq. dest.)
1		7.34	7.35	7.35	7.36	7.37	7.38	7.39	7.41	7.49	7.56	8.50
2		7.45	7.46	7.47	7.46	7.48	7.50	7.51	7.52	7.55	7.63	7.73
3		7.35	7.35	7.36	7.36	7.37	7.38	7.39	7.41	7.42	7.50	7.73
4		7.32	7.34	7.34	7.34	7.35	7.34	7.38	7.38	7.42	7.43	7.73
5		7.44	7.46	—	—	—	—	—	—	—	—	7.73
6		7.34	7.35	—	—	—	—	—	—	—	—	7.73
7		7.29	7.30	—	—	—	—	—	—	—	—	7.73
平均値		7.37	7.38	7.38	7.38	7.39	7.40	7.42	7.43	7.47	7.53	7.92

pH 測定温度, 37.5°C

を行った。

実験方法および実験成績

予め pH を 7.4 附近に修正した 0.7 %NaF 溶液 0.4ml を, 小試験管に盛り流動パラフィンを重ねておき, これに Heparin 加家兎心穿刺血液を 2.0ml 加えガラス棒で充分攪拌混和した後, 対照の血液と共に室温 (25°C) に保存しつつ, 一定時間をおいて数回室温で pH を測定した。又家兎血漿 1.0ml を NaF 0.4ml に加え同様の測定を行った。

実験結果は第 2 表に示す様である。表中の時間は被検血液に NaF 溶液を添加した後の時間を表す。血液に NaF を混入しても, 血液 pH は変動せず, 又, その後は数時間の間, 多少の変動はあるが, 殆んど一定の pH 値を維持した。

第2表 NaF が血液 pH および血漿 pH におよぼす影響

No.	血 液				血 漿			
	対 照	NaF 添加	対 照	NaF 添加	対 照	NaF 添加	対 照	NaF 添加
	時間 (分)	pH	時間 (分)	pH	時間 (分)	pH	時間 (分)	pH
1	7	7.45	5	7.46	11	7.51	0	7.55
	105	7.41	100	7.45	80	7.52	85	7.55
	165	7.39	160	7.45	—	—	260	7.55
	—	—	260	7.48				
2	9	7.47	5	7.47	10	7.54	6	7.58
	160	7.44	105	7.46	70	7.54	75	7.59
	155	7.42	150	7.46	—	—	250	7.58
	—	—	260	7.49				
3	9	7.56	5	7.57	7	7.66	4	7.68
	125	7.51	120	7.55	245	7.67	240	7.70
	260	7.45	250	7.55				
4	7	7.47	4	7.47	7	7.54	3	7.57
	125	7.43	120	7.45	245	7.54	240	7.57
	255	7.40	250	7.48				
5	7	7.44	2	7.45	8	7.51	5	7.55
	105	7.40	100	7.43	255	7.52	250	7.54
	255	7.34	250	7.47				
6	7	7.56	3	7.57	9	7.67	6	7.70
	125	7.50	120	7.56	245	7.68	240	7.72
	255	7.46	250	7.59				

pH 測定温度, 室温 (25°C), 時間は NaF 添加後の時間

血漿に NaF を混入した場合は, NaF 混入により血漿 pH は対照より 0.02~0.03 pH だけ高くなり, その後の時間的変動は殆んど全くなかった。この血漿 pH の上昇は単に血漿の稀釈による影響か或いは NaF 独自の作用によるものかは明らかでない。

C. Saponin 溶血後の赤血球内容 pH の変動の有無

本実験では赤血球粥にその 1/10 容の 10% Saponin 水溶液を混じているが, この量では溶血は殆んど瞬時に完了する。吾々は Saponin 溶血で得られる赤血球内容の pH の時間的変動の有無を調べ, 溶血前の赤血球内 pH を推知するために次の実験を行った。

実験方法および実験結果

Heparin 加入肘静脈血液を流動パラフィン下

にとり, 之に 0.7%NaF 溶液を血液の 1/5 容添加して遠心し, 分離した血漿を除去した。次で赤血球粥をツベルクリン注射器にとり, 更に赤血球粥の 1/10 容の 10% Saponin 水溶液および適当量の水銀を吸引し, これを振盪混和して赤血球を溶血させた後, 室温 (25°C) に保存しつつ, 一定時間をおいて数回 37.5°C で pH を測定した。

又, NaF を添加せず, 同様にして得た溶

血赤血球粥を二分し、1つは37.5°Cに、他は室温(28°C)に保存しつつ一定時間をおいて数回室温でpHを測定した。

その結果、溶血赤血球内容のpHは、溶血直後から2~3時間の間誤差範囲内の変動を示すのみであることを知った。

D. 考按

以上の実験により、吾々の計画する赤血球内容pH測定法において、血液にHeparin, NaFを添加しても血液pHは何等変動しないことが確められた。又、赤血球内容に血漿Saponin等が混入しても、このpH測定法の実験条件下では赤血球内容pHは何等影響を受けないであろうことは第Ⅰ編りに於いて述べた通りである。

Saponin溶液直後一正確にはSaponin混合後振盪に要した1分間と、ガラス電極の平衡時間1~2分間とを合せて2~3分後一から数時間の間赤血球内容pHは変動しないが、このことは溶血により赤血球内容pHが変化を受けたとしてもその変化は2~3分間で完了する事を意味している。生理的狀態における赤血球内のpHおよび溶血後2~3分以内の赤血球内容のpHを測定することは不可能であるが、3分以後のpH値の変動しないことから推して、溶血直後の赤血球内容pH或いは生理的狀態における赤血球内pHも、本測定法によって測定した赤血球内容pH値に等しいと仮定しても大過ないであろう。

また、NaFを添加せずに38°Cに保存した溶血赤血球内容のpHもかなり長時間変動しないが、このことは中山⁶⁾も指摘している如く、Saponin溶血を起した赤血球は解糖を起さないことを意味しているのであろう。

Ⅱ. 赤血球内容のpH

人の肘静脈血赤血球について、種々の実験条件の下に赤血球内容pHおよびそれと血漿pHとの差を実測し、更に遠心分離時の温度がそれらに及ぼす影響について検討を加えた。

実験方法

0.2% Heparinを加えて人の肘静脈より採っ

た血液20mlを氷室(2~5°C)に15分間保存して血液の解糖を阻止し、これをA, B, Cの3本の遠心管に3分しA, Bには0.7NaF溶液を血液の1/5容添加してガラス棒で充分混和した。次で、Aは37.5°C、BおよびCは15.0°Cの恒温槽に15分間保存した後、Aは37.5°CでBおよびCは15.0°Cで20分間遠心し、赤血球を血漿より分離した。なお遠心に先立ち各遠心管から約1mlの血液を注射器を使用して他の小試験管に分注し血液pH測定に供した。

NaFの添加しない血液のpHは出来るだけ速かに測定した。

遠心分離して得た血漿は注射器にとり血漿pHの測定に供した。残余の血漿および白血球層はスポイトで充分除き、次で赤血球粥を注射器にとり更に赤血球の1/10容の10% Saponin溶液および水洗乾燥した水銀適当量を吸引し、これを振盪混和して赤血球を溶血せしめて、赤血球内容pHの測定に供した。

以上の操作はすべて流動パラフィン下で気密に行い、また、Heparin, NaF, Saponin溶液のpHは予め7.4に修正した。なお、試料は出来るだけ氷室内に保存した。このような実験条件の下ではNaFを添加した血液のpHおよびSaponinで溶血させた赤血球内容のpHは、8~10時間に互って誤差範囲内の変動を示すのみであった。なお、NaFを添加しないHeparin加血液を室温(10~15°C)に保存する場合は、1時間に0.005~0.01 pHの血液pHの低下を見た。

実験成績および考按

人の肘静脈血赤血球内容のpHおよびそれと血液pH又は血漿pHとの差は第3表A~Cに示すようになる。

第3表AはHeparin加血液にNaFを添加して37.5°Cで赤血球を血漿より分離した場合の成績である。15.0°Cにおける赤血球内容pHは平均7.48(標準偏差 $\sigma=0.016$)で、血液pHより平均0.14($\sigma=0.016$)だけ低い。37.5°Cにおける赤血球内容pHは平均7.18($\sigma=0.019$)で血液pHより平均0.15($\sigma=0.011$)だけ低く、また、

第3表A 人赤血球内容の pH. NaF 添加血液を 37.5°C で遠心した場合

No.	給血者	pH						r. (H^+)p/(H^+)c (pH 測定温度 37.5°C)
		pH 測定温度: 15.0°C			pH 測定温度: 37.5°C			
		赤血球内容 pH (pHc)	血液 pH- pHc	血漿 pH- pHc	赤血球内容 pH	血液 pH- pHc	血漿 pH- pHc	
1	O. O.	7.487	0.125	0.085	7.189	0.157	0.189	0.697
2	E. N.	7.442	0.114	0.099	7.148	0.148	0.178	0.711
3	Y. H.	7.485	0.180	0.156	7.220	0.175	0.170	0.668
4	Y. K.	7.449	0.145	0.091	7.174	0.132	0.127	0.738
5	M. I.	7.479	0.131	0.109	7.185	0.139	0.152	0.726
6	S. N.	7.461	0.117	0.087	7.168	0.128	0.143	0.745
7	S. I.	7.497	0.125	0.104	7.165	0.153	0.168	0.703
8	T. Y.	7.486	0.127	0.088	7.151	0.151	0.170	0.706
9	O. O.	7.488	0.132	0.094	7.181	0.150	0.149	0.708
10	Y. H.	7.497	0.140	0.111	7.208	0.141	0.148	0.723
11	Y. S.	7.482	0.132	0.110	7.173	0.154	0.178	0.701
12	N. N.	7.472	0.141	0.105	7.175	0.154	0.167	0.701
13	Y. K.	7.468	0.125	0.082	7.157	0.146	0.164	0.714
14	E. N.	7.469	0.151	0.102	7.169	0.150	0.179	0.708
平均値		7.476	0.135	0.102	7.176	0.148	0.163	0.711
標準偏差		0.016	0.016	0.017	0.019	0.011	0.016	0.057

第3表B 人赤血球内容の pH. NaF 添加血液を 15°C で遠心した場合

No.	給血者	pH					
		pH 測定温度: 15.0°C			pH 測定温度: 37.5°C		
		赤血球内容 pH (pHc)	血液 pH- pHc	血漿 pH- pHc	赤血球内容 pH	血液 pH- pHc	血漿 pH- pHc
1	O. O.	7.478	0.137	0.132	7.195	0.143	0.226
2	E. N.	7.436	0.134	0.144	7.131	0.164	0.230
3	Y. H.	7.488	0.161	0.172	7.225	0.166	0.196
4	Y. K.	7.443	0.158	0.172	7.174	0.131	0.181
5	M. I.	7.472	0.131	0.159	7.196	0.135	0.175
6	S. N.	7.461	0.121	0.132	7.168	0.128	0.205
7	S. I.	7.504	0.129	0.156	7.156	0.167	0.240
8	T. Y.	7.481	0.134	0.138	7.151	0.148	0.257
9	O. O.	7.497	0.117	0.137	7.197	0.142	0.168
10	Y. H.	7.479	0.155	0.166	7.211	0.142	0.203
11	Y. S.	7.477	0.116	0.134	7.175	0.147	0.215
12	N. N.	7.457	0.137	0.146	7.178	0.148	0.221
13	Y. K.	7.473	0.122	0.149	7.153	0.150	0.196
14	E. N.	7.471	0.149	0.161	7.172	0.144	0.201
平均値		7.473	0.136	0.150	7.177	0.147	0.208
標準偏差		0.018	0.014	0.014	0.025	0.012	0.024

第3表C 人赤血球内容 pH. NaF を添加せずに血液を 15°C で遠心した場合

No.	給血者	pH					
		pH 測定温度: 15.0°C			pH 測定温度: 37.5°C		
		赤血球内容 pH (pHc)	血液 pH- pHc	血漿 pH- pHc	赤血球内容 pH	血液 pH- pHc	血漿 pH- pHc
1	O. O.	7.463	0.142	0.171	7.177	0.165	0.239
2	E. N.	7.430	0.137	0.150	7.113	0.182	0.248
3	Y. H.	7.486	0.163	0.150	7.208	0.185	0.180
4	Y. K.	7.446	0.134	0.155	7.157	0.148	0.191
5	M. I.	7.470	0.126	0.149	7.173	0.155	0.193
6	S. N.	7.461	0.128	0.142	7.154	0.142	0.199
7	S. I.	7.493	0.127	0.131	7.153	0.163	0.188
8	T. Y.	7.481	0.134	0.143	7.143	0.144	0.218
9	O. O.	7.468	0.149	0.154	7.172	0.164	0.193
10	Y. H.	7.482	0.153	0.152	7.184	0.155	0.209
11	Y. S.	7.447	0.157	0.167	7.172	0.161	0.200
12	N. N.	7.457	0.147	0.146	7.168	0.156	0.217
13	Y. K.	7.471	0.123	0.139	7.147	0.164	0.198
14	E. N.	7.463	0.157	0.152	7.163	0.150	0.201
平均値		7.466	0.141	0.150	7.163	0.160	0.205
標準偏差		0.017	0.013	0.010	0.021	0.012	0.019

血漿 pH より平均 0.16
($\sigma=0.016$) だけ低い.

又この成績から血液の
血漿中の水素イオン濃
度との比 (H^+)_p/(H^+)_c
を算出してみると,
37.5°C に於いては平均
0.711($\sigma=0.057$)となる.

第3表Bは Heparin
加血液に NaF を添加
して 15.0°C で赤血球を
血漿より分離した場合
の成績である. 15.0°C
における赤血球内容
pH は平均 7.47 ($\sigma=$
0.018) で血液 pH より
平均 0.14 ($\sigma=0.014$) だ
け低く, 血漿 pH より
平均 0.15 ($\sigma=0.014$) だ
け低い. 37.5°C にお
ける赤血球内容 pH は
平均 7.18 ($\sigma=0.025$) で
血液 pH より平均 0.15
($\sigma=0.012$) だけ低い.

第3表Cは Heparin
加血液に NaF を添加
せずに 15.0°C で赤血球

を血漿より分離した場合の成績である。15.0°C における赤血球内容 pH は平均 7.47 ($\sigma=0.017$) で血液 pH より平均 0.14 ($\sigma=0.013$) だけ低く、また、血漿 pH より平均 0.15 ($\sigma=0.010$) だけ低い。37.5°C における赤血球内容 pH は平均 7.16 ($\sigma=0.021$) で血液 pH より平均 0.16 ($\sigma=0.012$) だけ低い。以上の各平均値を比較してみると、赤血球内容 pH は A, B, C 共に互によく一致している。即ち赤血球内容 pH は遠心分離時の温度には殆んど全く影響されないことが分る。

また、低い室温に於いて全操作を行う場合は NaF の添加を省略しても差支えない。尙、従来の成書には赤血球内の pH は血漿のそれより 0.08~0.14 pH だけ低いと記載されているが⁸⁾⁹⁾、吾々の得た値はこの値より明らかに大きい。37.5°C における血液 pH-赤血球内容 pH 差は、15.0°C におけるそれよりも、0.01~0.02 pH だけ大きい。即ち赤血球内容 pH の温度係数は血液 pH のそれよりやや高い。又、同一の pH 測定温度に於いては、15°C で分離した血漿の pH が

37.5°C で分離した血漿の pH より平均 0.05 pH だけ高い。尙、血漿 pH 測定値は血液 pH より 0.01~0.02 pH だけ高いが、これは遠心その他の操作中における血漿中の CO₂ の脱出によるものと考えられる。

IV. 赤血球内容 pH の温度係数

Ⅲにおいて吾々は赤血球内容 pH の温度係数が血液のそれよりやや高いことを知ったが、更に赤血球内容 pH の温度係数を測定しこれと血液 pH および血漿 pH の温度係数と比較した。

実験方法

人肘静脈血液約 12ml に Heparin を加えて採り、これを、流動パラフィン下に 0.7% NaF 溶液 0.6ml を盛った小試験管及び流動パラフィンのみを入れた小試験管に各々 3ml 分注し、残余の 6ml の血液を流動パラフィンを入れた遠心管にうつして 12~17°C で遠心して赤血球を血漿から分離した。遠心分離した血漿は注射器を用いて別の流動パラフィン入小試験管にうつし血

第4表A 人赤血球内容pH, 入血液pH, 入血漿pHの温度係数
赤 血 球 内 容

No. (給血者)	赤 血 球 内 容				NaF 添 加 血 液					
	pH		温 度 係 数		pH		温 度 係 数			
	No.	pH測定温度 15.0°C 37.5°C	No.	-dpH/dt	No.	pH測定温度 15.0°C 37.5°C	No.	-dpH/dt		
1	1	7.505	7.158	1	0.0154	1	7.649	7.338	1	0.0138
(O. O.)	2	7.490	7.155	2	0.0148	2	7.642	7.333	2	0.0135
2	1	7.490	7.123	1	0.0163	1	7.626	7.285	1	0.0152
(Y. K.)	2	7.470	7.137	2	0.0154	2	7.612	7.281	2	0.0146
3	1	7.469	7.167	1	0.0134	1	7.616	7.308	1	0.0137
(Y. H.)	2	7.462	7.162	2	0.0132	2	7.614	7.308	2	0.0136
4	1	7.469	7.148	1	0.0143	1	7.610	7.291	1	0.0142
(E. N.)	2	7.459	7.148	2	0.0138	2	7.605	7.298	2	0.0140
5	1	7.465	7.114	1	0.0156	1	7.613	7.327	1	0.0127
(Y. S.)	2	7.451	7.120	2	0.0150	2	7.619	7.318	2	0.0130
6	1	7.471	7.140	1	0.0148	1	7.621	7.320	1	0.0133
(S. T.)	2	7.458	7.135	2	0.0142	2	7.519	7.312	2	0.0133
7	1	7.485	7.153	1	0.0148	1	7.618	7.306	1	0.0138
(N. N.)	2	7.472	7.152	2	0.0142	2	7.611	7.298	2	0.0136
8	1	7.483	7.148	1	0.0149	1	7.630	7.311	1	0.0142
(S. N.)	2	7.471	7.158	2	0.0144	2	7.623	7.322	2	0.0138
9	1	7.511	7.215	1	0.0136	1	7.668	7.368	1	0.0134
(M. I.)	2	7.501	7.196	2	0.0132	2	7.654	7.368	2	0.0128
10	1	7.493	7.190	1	0.0135	1	7.652	7.351	1	0.0134
(S. N.)	2	7.481	7.183	2	0.0130	2	7.645	7.348	2	0.0131
平 均 値		7.478	7.155		0.0144		7.628	7.320		0.0137
標 準 偏 差		0.015	0.024		0.00085		0.017	0.023		0.00055

第4表B 入赤血球内容 pH, 入血液 pH, 入血漿 pH の温度係数 (続き)
血液 (NaF 添加せず)

No. (給血者)	血液 (NaF 添加せず)					血 漿				
	pH		温 度 係 数			pH		温 度 係 数		
	No.	pH測定温度		No.	-dpH/dt	No.	pH測定温度		No.	-dpH/dt
		15.0°C	37.5°C				15.0°C	37.5°C		
1	1	7.647	7.328	1	0.0142	1	7.685	7.415	1	0.0120
(O. O.)	2	7.637	7.345	2	0.0138	2	7.683	7.430	2	0.0119
2	1	7.609	7.275	1	0.0148	1	7.651	7.385	1	0.0118
(Y. K.)	2	7.591	7.285	2	0.0140	2	7.652	7.400	2	0.0119
3	1	7.610	7.296	1	0.0140	1	7.650	7.400	1	0.0111
(Y. H.)	2	7.609	7.290	2	0.0140	2	7.661	7.390	2	0.0116
4	1	7.604	7.281	1	0.0144	1	7.635	7.396	1	0.0106
(E. N.)	2	7.589	7.283	2	0.0137	2	7.635	7.401	2	0.0106
5	1	7.613	7.308	1	0.0136	1	7.648	7.390	1	0.0115
(Y. S.)	2	7.609	7.305	2	0.0134	2	7.653	7.401	2	0.0117
6	1	7.625	7.302	1	0.0144	1	7.662	7.411	1	0.0112
(S. T.)	2	7.607	7.292	2	0.0136	2	7.658	7.398	2	0.0110
7	1	7.613	7.289	1	0.0144	1	7.638	7.404	1	0.0104
(N. N.)	2	7.593	7.271	2	0.0135	2	7.646	7.391	2	0.0108
8	1	7.621	7.303	1	0.0142	1	7.646	7.376	1	0.0120
(S. N.)	2	7.599	7.278	2	0.0132	2	7.644	7.390	2	0.0119
9	1	7.660	7.366	1	0.0131	1	7.714	7.443	1	0.0120
(M. I.)	2	7.643	7.365	2	0.0123	2	7.720	7.453	2	0.0123
10	1	7.639	7.328	1	0.0138	1	7.677	7.428	1	0.0111
(S. N.)	2	7.626	7.330	2	0.0133	2	7.688	7.431	2	0.0116
平 均 値		7.617	7.306		0.0138		7.663	7.407		0.0115
標 準 偏 差		0.018	0.027		0.00044		0.024	0.019		0.00054

漿 pH 測定に供した。赤血球粥はこれを注射器にとり赤血球粥の 1/10 容の 10% Saponin および水銀を加えて振盪混和して赤血球を溶血せしめた。この様にして得た血液、血漿、赤血球内容の各試料を、氷室 (2~4°C) に保存し、それらの pH を、測定温度 15.0°C→37.5°C→15.0°C→37.5°C の順で各々 4 回ずつ測定した。

pH 測定に際してはガラス電極、甘汞電極、恒温槽を組合せた装置を 2 組準備し一方を 15°C に、他方を 37.5°C に保っておき、この装置を交互に電位計に連結して pH 測定を行った。なお 1 回の測定と次の測定との間隔は各々約 1 時間であった。

実験成績および考按

結果は第4表のようになる。表中温度係数の欄の No. は、pH 測定の第1回目 (15.0°C) と第2回目 (37.5°C) の測定値より求めた温度係数を No.1 とし、第2回目と第3回目 (15°C) とより求めたものを No.2 とし、両者の平均を以て、その試料の pH の温度係数とした。

赤血球内容 pH の温度係数は平均 -0.0144 ($\sigma=0.00085$) で、血液 pH の温度係数 -0.0138 ($\sigma=0.00044$) よりやや高い。血液 pH の温度係数は血液に NaF が混入しても殆んど全く変化しない。尙血液 pH の温度係数は Rosenthal¹⁰⁾ および斎藤等²⁾ が尿酸塩を添加して凝固を阻止した血液について求めた値、 -0.0147 および -0.0146 に比してやや低い値を示している。又血漿 pH の温度係数は、 -0.0115 ($\sigma=0.00054$) で、Rosenthal および斎藤らの求めた値、 -0.0118 および -0.0110 とよく一致した値を得た。

V. 要 約

第Ⅰ編および本編Ⅰの予備実験の成績より、吾々の企図する赤血球内容の pH 測定法に大きな誤差は導入されないであろうという実験的根拠が得られた。そこで本法を用いて、人肘静脈血について、種々の実験条件の下に赤血球内容の pH の実測を試みた。

人肘静脈血赤血球内容の pH は、赤血球を血

漿 pH より分離した時の温度には殆んど影響されず, pH 測定温度 15.0°C においては平均 7.48 で, 血漿より平均 0.14 pH だけ低く, 37.5°C においては平均 7.18 で血漿 pH より平均 0.15 pH だけ低い. 又, 血漿の水素イオン濃度と赤血球内容のそれとの比 $\frac{([H^+]_p)}{([H^+]_c)}$ は 37.5°C に於いて平均 0.71 であった. 又, 赤血球内容 pH の温度係数は -0.0144 で Heparin 加血液の pH 温度係数 -0.0138 よりやや高い.

文 献

- 1) 西田悦郎 (1957) 赤血球内容の pH 測定について (第Ⅰ編) 日本生理誌 19, 31
- 2) 中村武夫 (1940) 血清緩衝作用の研究 京府医大誌

- 29, 82
- 3) 斎藤幸一郎・本田良行 (1955) 微量ガラス電極による血液 pH およびその温度係数の測定 日新医学 42, 167
- 4) Havard, R. E. et al. (1929) An immediate acid change in shed blood. Biochem. J. 23, 600
- 5) Yoshimura, H. (1935) On the acid change in shed blood. J. Biochem. 21, 335
- 6) 中山達夫 (1955) 血液の Acid Change と Glycolysis 十全医学誌 57, 1389
- 7) Yoshimura, H. (1935) Effects of anticoagulants on the pH of the blood. J. Biochem. 22, 279
- 8) Best and Taylor (1950) Physiological basis of medical practice. 134, Williams & Wilkins Co.
- 9) 正路倫之助 (1933) 医用生理学 上巻 71, 南江堂
- 10) Rosenthal, T. B. (1948) The effect of temperature on the pH of blood and plasma in vitro. J. Biol. Chem. 173, 25

Summary

The pH of the contents of human erythrocytes was measured by means of the method previously reported by the present author. The average value of the pH was 7.18 at 37.5°C and lower than that of the plasma pH by 0.15 pH, while it was 7.48 at 15°C and lower than that of the plasma pH by 0.14 pH. It was found that the pH of the contents of erythrocytes is independent of the temperature at which the erythrocytes were separated from the plasma. The ratio of the hydrogen ion concentration in the plasma to that in the erythrocytes was 0.71 at 37.5°C. The temperature coefficient of pH for the contents of erythrocytes was -0.0144, being slightly higher than that for the heparinized blood, -0.0138.

(from 1st Department of Physiology, School of Medicine, Kanazawa University)

赤血球内容の pH 測定について 612.111:612.121.2

(第Ⅲ編) 血漿 pH の変化に伴う赤血球内容 pH の変動について

The pH determination of the Contents of Erythrocytes.

Ⅲ. On the Change in the pH of the Contents of Erythrocytes following the Change of the Plasma pH.

西 田 悦 郎 (NISHIDA-Etsuro) *

I. 血液に酸およびアルカリを添加した場合の赤血球内容の pH

吾々は先に赤血球内容の pH を正確に且つ速かに測定する方法を考察した¹⁾²⁾ がその方法を用いて Heparin 加血液に種々の酸及びアルカリを添加して血漿 pH を変化させた場合の赤血球内容 pH を測定し、これを血漿 pH と比較した。

実験方法

血液に添加する酸およびアルカリとしては等張のクエン酸、燐酸、乳酸、醋酸、炭酸、炭酸ソーダを使用した。なおそれらの等張濃度は氷点降下度測定に依り、クエン酸 0.29mol, 燐酸 0.25mol, 乳酸 0.29mol, 醋酸 0.30mol, 炭酸ソーダ 0.13mol の値を得た。

人肘静脈より血液 35ml を気密にとりこれに 0.2% Heparin 1ml を混和し、流動パラフィン入試験管にうつし 2~4°C の氷室に15分間保存して解糖を阻止した後、注射器を使用して 5ml ずつ7本の流動パラフィン入遠心管に分注した。添加する酸およびアルカリが赤血球に直接接触するのを避ける目的でこれらの血液を遠心器にかけて赤血球を沈降せしめ、上清の血漿中に試薬を加えるようにした。第1本目に等張の酸を 0.75ml, 2本目に 0.5ml, 3, 4本目には等張の酸を 0.9% 食塩水で 1.5 倍および 3 倍に稀釈したものを各々 0.5ml, 5本目には等張の炭酸ソーダを 0.5ml 添加した。残り2本は対照とし、そのうち1本には 0.7% NaF 水溶液を血液の1/5容添加した。酸およびアルカリを添加した遠心管は更に 2,000~2,500 r. p. m. で 5~10分間遠心して、流動パラフィン中に酸およびアルカリの

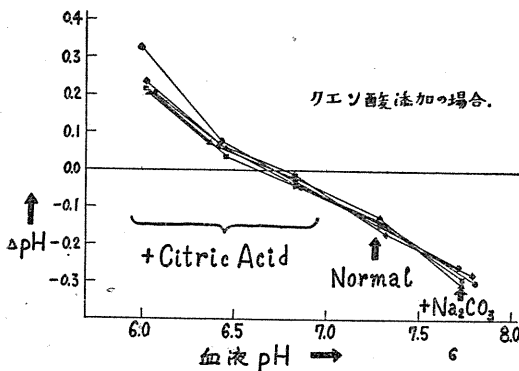
滴が残存することのないようにした。なお数例の実験に際してはこれらのうちの数本を省略した。又、CO₂ を添加する場合には血液をトノメーター中で、15% および 30% の CO₂ を含む空気および 100% の CO₂ と順次室温において 20~30 分間平衡させた後、流動パラフィン入遠心管に分注した。又数例においては血液中の炭酸張力を減少させるため血液を室温において空気に十分曝した後流動パラフィン下に封じた。

これらの酸およびアルカリを添加した血液をガラス棒を用いて充分攪拌混和し、15°C の恒温槽に15分間保存した後、血液の約 1ml を流動パラフィン入小試験管に分注し、残余の血液を 15°C で 20分間遠心 (3,000~3,500 r. p. m., 半径 14cm) した。

分注した血液は氷室に保存し、血液 pH の測定に供した。遠心により血漿より分離した赤血球粥は、ツベルクリン注射器にとり 1/10 容の 10% Saponin 水溶液および適当量の水銀を更に吸引し振盪混和して溶血せしめた後これを氷室に保存し、小試験管に分注して血液とともに pH 測定に供した。pH は当教室作製の管型ガラス電極³⁾ を使用して主として 37.5°C に於いて測定したが、数例においては更に 15°C に於いても測定した。

等張の酸およびアルカリを添加した血液を、15°C に保存する場合は解糖に依る pH 低下は避けられないが、添加した酸又はアルカリに依る pH 変化は、添加後の極めて短時間 (数分) 内に終了することを予め確かめた。又 25°C に保存した場合も同様の結果を得た。血液 pH を比較的低くした場合、および血液を氷室に保存した

* 金沢大学医学部第1生理学教室



第1図

入血液に酸およびアルカリを添加した場合の血液 pH と、赤血球内容 pH-血液 pH 差 (ΔpH) との関係 (pH 測定温度 37.5°C). クエン酸添加の場合

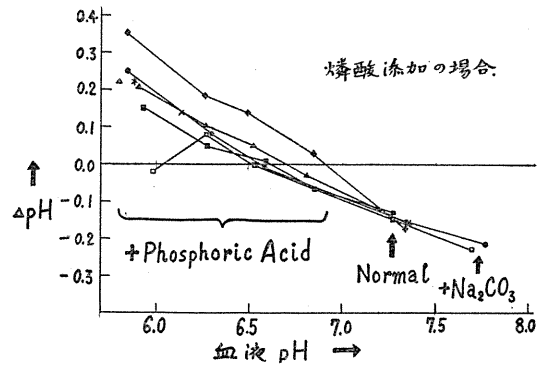
場合には pH 変動は 2~4 時間にわたって誤差範囲に止った。なお、NaF は pH の低い範囲では緩衝能が極めて大きくなり、NaF の混入が赤血球内容 pH に影響を及ぼすから本実験に於いては NaF の添加を避けた。血漿の緩衝能は pH の低下と共にやや増大するが、本実験に於いては血漿の混入は赤血球内容 pH を変動せしめる原因とはならない。

実験成績

血液に酸およびアルカリを添加した場合の血漿 pH, およびそれと赤血球内容 pH との差を 37.5°C で測定して第 1~5 図の結果を得た。図中横軸には血漿 pH (血液 pH) をとり縦軸には赤血球内容 pH と血漿 pH との差 (ΔpH) をとった。

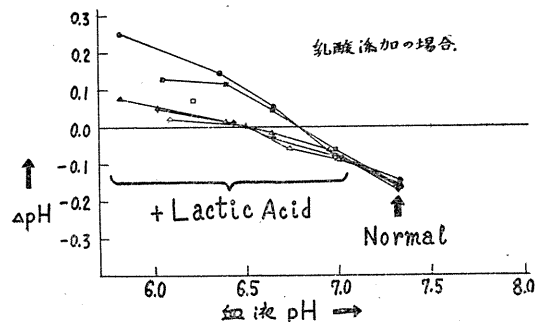
第 1 図は血液にクエン酸および炭酸ソーダを添加した場合の成績である。クエン酸の添加により血漿 pH および赤血球内容 pH は共に低下し、且つ血漿 pH と赤血球内容 pH との差は次第に小さくなり、血漿 pH が平均 6.72 (標準偏差 $\sigma=0.054$) の点で赤血球内外の pH は等しくなる。更に血漿 pH が低下すると、逆に赤血球内容 pH が血漿 pH よりも高くなる。又、炭酸ソーダを添加した場合は、血漿 pH の上昇に伴って赤血球内容 pH も上昇し、且つ、両者の差は次第に大きくなる。

血液に磷酸、および乳酸を添加した場合は夫々第 2, 3 図に示すように、クエン酸添加の場



第2図

入血液に酸およびアルカリを添加した場合の血液 pH と、赤血球内容 pH-血液 pH 差 (ΔpH) との関係 (pH 測定温度 37.5°C). 磷酸添加の場合



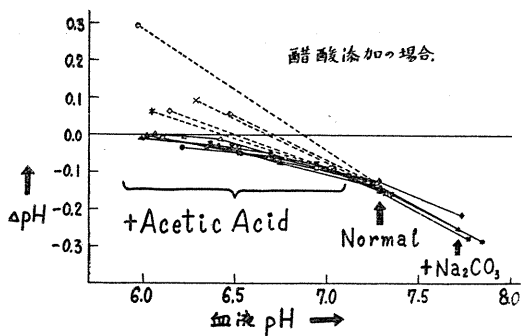
第3図

入血液に酸およびアルカリを添加した場合の血液 pH と、赤血球内容 pH-血液 pH 差 (ΔpH) との関係 (pH 測定温度 37.5°C). 乳酸添加の場合

合と略々同様の傾向を示すが赤血球内外の pH の等しくなる血漿 pH 値は磷酸の場合には平均 6.65 ($\sigma=0.136$), 乳酸の場合は 6.61 ($\sigma=0.153$) である。

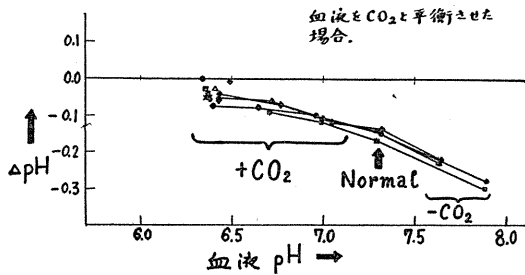
第 4 図は血液に醋酸を添加した場合の成績であり、大体の傾向はクエン酸添加の場合に似ているが、赤血球内外の pH の等しくなる血漿 pH は前 3 者より低く平均 6.29 ($\sigma=0.300$) 附近である。なお曲線が横軸 ($\Delta pH=0$ の線) と交らない場合は extrapolation で交点を求め又酸添加の場合の点が 1 個しか求めてない場合はこれと正常血液の状態をあらわす点とを直線で結んで測定曲線に代えた。

第 5 図は血液を CO_2 混合空気と平衡させた場合の成績で、 CO_2 混合空気の CO_2 分圧が高まるにつれて血漿 pH の低下と共に赤血球内容 pH-



第4図

人血液に酸およびアルカリを添加した場合の血液 pH と、赤血球内容 pH-血液 pH 差 (Δ pH) との関係 (pH 測定温度 37.5°C). 醋酸添加の場合



第5図

人血液に酸およびアルカリを添加した場合の血液 pH と、赤血球内容 pH-血液 pH 差 (Δ pH) との関係 (pH 測定温度 37.5°C). 血液を CO_2 と平衡させた場合

血漿 pH 差は次第に小さくなる。血漿 pH の最も低下した $6.4\sim 6.5$ の範囲に於いても赤血球内容 pH が血漿 pH より高くなる事はなかった。又血液を空気に曝した場合は炭酸ソーダ添加の場合と同様の結果を得た。

又 15.0°C において測定を行った場合は、血漿 pH 及び赤血球内容 pH の値は勿論 37.5°C における値よりも上昇するが、両者の関係は、 37.5°C の場合と略々同様の関係を示した。

考按

吾々は血液に酸を添加すると血漿 pH の低下に伴って血漿 pH-赤血球内容 pH 差は次第に小さくなり遂には赤血球内外の pH は等しくなり更に血漿 pH が低下すると赤血球内容 pH の方が高くなり、又アルカリ添加の場合は血漿 pH の上昇に伴って血漿 pH-赤血球内容 pH 差が次第に大きくなる事を知った。この赤血球内外の pH の等しくなる pH 値は、クエン酸、磷酸、

乳酸添加の場合に於いては、従来言われているヘモグロビンの等電点に略々一致している。この事は、赤血球膜内外の pH が等しくなる pH 値をヘモグロビンの等電点と仮定すれば一厳密には血漿中の蛋白質の荷電も考慮に入れないが—Donnan の膜平衡の理論で一応説明がつく。即ち赤血球内容の pH がヘモグロビンの等電点より高い場合はヘモグロビンは負の荷電を有するから $[\text{H}^+]_p/[\text{H}^+]_c (=r)$ は 1 より小となり、等電点ではヘモグロビンは電氣的に中性となるので $r=1$ となり、等電点より低い pH の場合はヘモグロビンは正の荷電を有するから $r>1$ となるのであろう。

血液を CO_2 と平衡させた場合は赤血球膜内外の pH が等しくなるまで血漿 pH を低下させることは出来ないが、赤血球内外の pH の等しくなる pH 値があるとすればそれは明らかにクエン酸添加の場合の pH よりかなり低いであろう。又醋酸添加の場合も赤血球膜内外の pH が等しくなる pH 値はクエン酸添加の場合よりも低い。このことはヘモグロビンに CO_2 又は醋酸基が作用してヘモグロビンの等電点が低下したことを意味するのではなかろうか。

Ⅱ. 保存血液の赤血球内容 pH

血液を低温に保存すると保存日数の増加に伴って血漿 pH の低下が起るが、その際赤血球内容 pH に起る変動を測定し、これと、血液に酸を添加して血漿 pH を低下せしめた場合の赤血球内容 pH の変動と比較した。

実験方法

クエン酸 [A] 0.25g/l 、クエン酸ソーダ [C] ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$) 13.0g/l 、ブドウ糖 [D] 30.0g/l なる組成の ACD 液を注射筒内に 10ml 吸引しておき、人肘静脈より 40ml の血液をこれにとり、これを流動パラフィン入の大試験管にうつしガラス棒で血液と ACD 液を充分混和した。次で別の注射器を用いて 5ml ずつ 10本の流動パラフィン入遠心管に分注し、これを $4\sim 6^{\circ}\text{C}$ の氷室に 30日間保存し一定期間毎に取り出して血漿 pH、血液 pH、赤血球内容 pH、溶血

度の測定に供した。流動パラフィン、遠心管等は予め 100~120°C で30~60分間乾熱滅菌した後氷室に保存した。血液を氷室に保存するまでの操作はすべて無菌的に且つ気密に行った。

pH 測定に際しては、2本の保存血液試料を用い、その各々に稍異った操作を施して測定を行った。夫は、血液を保存すると、赤血球は器内で沈降し血漿と分離している。そして赤血球は保存中僅少ではあるが解糖を行い乳酸を生成しつづけるから、沈降した赤血球及びその間隙にある血漿には乳酸が多く蓄積し上清血漿とは異った pH 値を有することが推測される。故に保存状態に於ける血液成分の pH を知るには上清血漿、赤血球間隙の血漿、沈降した赤血球を混和することなく、そのままの状態で分別採取し測定に供さなければならぬ。一方、保存血液を実地に使用する場合には予めよく混和して用うるから、使用時に於ける血液成分の pH を測定するには、内容を混和した後血漿と血球を分離しなければならぬ。即ち一方の試料については、保存中に赤血球より分離した上層の血漿、および沈降している赤血球層の血液の一部分を注射器を使用して流動パラフィン入小試験管に分注し各々 pH 測定に供し、残余の血液を混和することなく遠心し、得た赤血球粥を Saponin 溶血せしめてその赤血球内容 pH を測定した。他方の試料については、血液をガラス棒で攪拌混和した後血液の一部分を流動パラフィン入小試験管に分注し血液 pH 測定に供し、残余の血液を遠心し、得た赤血球粥を溶血せしめて赤血球内容 pH を測定した。遠心は 15°C 前後で行い、pH 測定は各々 15.0°C および 37.5°C で行った。溶血度は血漿中のヘモグロビン量の全血総ヘモグロビン量に対する百分率で表し、ヘモグロビン量は塩酸ヘマチン化法に依って測定した。即ち血漿又は血液を蒸留水で稀釈してヘモグロビン濃度が 50~300mg/dl となる様にし、この稀釈液 1 容に 0.1N HCl 5 容を加えて 20~25°C に 20 分間放置した後蒸留水を Blank として青フィルターを使用して光電比色計で比色した。

第 1 表 保存日数と保存赤血球内容 pH との関係 (4 例平均)

保日 存数 (日)	pH	pH 測定温 度 15.0°C		pH 測定温 度 37.5°C		溶 血 度 %
		混 ぜ 和 す	混 和	混 ぜ 和 す	混 和	
1	Plasma pH	—	—	—	—	—
	Blood pH*	—	7.46	—	7.15	
	pHc**	—	7.41	—	7.10	
	pHc-Blood pH	—	-0.05	—	-0.05	
3	Plasma pH	7.53	—	—	—	—
	Blood pH*	7.40	7.42	7.09	7.11	
	pHc	7.37	7.38	7.05	7.06	
	pHc-Blood pH	-0.03	-0.04	-0.04	-0.05	
10	Plasma pH	7.40	—	—	—	—
	Blood pH	7.19	7.23	6.91	6.94	
	pHc	7.17	7.20	6.88	6.90	
	pHc-Blood pH	-0.02	-0.03	-0.03	-0.04	
20	Plasma pH	7.10	—	—	—	0.31
	Blood pH	6.77	6.85	6.54	6.62	
	pHc	6.79	6.84	6.55	6.60	
	pHc-Blood pH	+0.02	-0.01	+0.01	-0.02	
30	Plasma pH	6.94	—	—	—	0.71
	Blood pH	6.66	6.74	6.48	6.56	
	pHc	6.70	6.74	6.52	6.55	
	pHc-Blood pH	+0.04	0.03	+0.04	-0.01	

* 混和しない血液では沈降赤血球間隙の血漿の pH。
混和した血液では再浮遊した赤血球の周囲の血漿の pH。 ** pHc = 赤血球内容 pH

実験成績および考按

保存血液の赤血球内容 pH, 血漿 pH 等を 4 例について測定した結果を平均すると第 1 表のようになる。今 pH 測定温度 15°C の場合をみると、保存日数の増加と共に血液 pH, 赤血球内容 pH は共に低下するが、その差は次第に小さくなる。即ち保存中に沈降している赤血球内容の pH は保存当初はその周囲の血漿の pH より平均 0.05 pH だけ低いが、保存日数の増加と共にその差は小さくなり保存 20 日後に赤血球周囲の血漿の pH が 6.8 附近に低下すると赤血球内容 pH は血漿 pH より逆に 0.02 pH 程高くなる。更に保存日数が増して血漿 pH が低下するとその差は更に大きくなる。なお赤血球内外の pH の等しくなる範囲は 15.0°C では 6.7~6.9 であり 37.5°C では 6.5~6.6 であった。

又保存中に赤血球から分離した赤血球上層の血漿の pH は血液をガラス棒で混和した試料の血液 pH よりも 0.1~0.2 pH だけ高いが、これは 4~6°C の低温で分離された血漿を 15°C で測定したために生じた差であろう。この赤血球上層の血漿の pH は保存日数の増加に伴って低下

するが、この血漿 pH と沈降赤血球間隙の血漿の pH との差は次第に増大する傾向にある。これは赤血球間隙の血漿中に、溶血した赤血球の内容が混入すると共に、赤血球の解糖作用により生じた乳酸その他の酸が、赤血球上層の血漿よりも赤血球間隙に高濃度に蓄積するためである。

混和した試料の血漿 pH が混和しない試料の赤血球間隙の血漿 pH より高いのは攪拌により赤血球間隙の血漿中の酸が赤血球上層の血漿によって希釈されたからであり、混和した試料の赤血球内容 pH が混和しない試料の赤血球内容 pH よりやや高いのは、攪拌によって赤血球周囲の血漿の pH が上昇した為それに従って赤血球内容 pH も上昇したのであろう。

以上の所見より保存血液では沈澱せる赤血球層には赤血球内にも血球間の血漿中にも上清の血漿より高濃度に酸（恐らく乳酸）が蓄積していることが分る。又 37.5°C に於いて pH を測定した場合も同様の傾向を示している。

本実験に於いて血漿および赤血球内容の pH を低下せしめる酸は ACD 液として加えられたクエン酸と、保存中に産出される乳酸その他の酸であろうが、本実験により得た結果を、血液にクエン酸又は乳酸を添加して血漿 pH を低下せしめた場合の実験と比較してみると大体に於いてよく似た結果を示している。

Ⅲ. 要 約

Heparin 加入肘静脈血液に種々の酸およびアルカリを添加して血漿 pH を変化させた場合の赤血球内容 pH を測定してこれを血漿 pH とを

比較した。

酸を添加した場合は血漿 pH の低下に伴って赤血球内容 pH も低下し且つ両者の差は次第に小さくなり、クエン酸、磷酸、乳酸添加の場合は pH 6.6~6.7 附近で赤血球膜内外の pH は等しくなり、醋酸添加の場合は pH 6.3 附近で等しくなる。血漿 pH がさらに低下すると逆に赤血球内容 pH が血漿 pH より高くなる。血液を CO_2 と平衡させた場合は、血漿 pH の最も低下した pH 6.4~6.5 の範囲に於いても尚赤血球内容 pH が血漿 pH より高くなる事はなかった。

また炭酸ソーダ添加の場合および血液を空気に曝した場合は赤血球内容 pH は血漿 pH の上昇に伴って上昇し且つ両者の差は次第に大きくなる。

また ACD 液加血液を $4\sim6^{\circ}\text{C}$ に保存してその場合の赤血球内容 pH を測定し、これと血漿 pH と比較した。保存日数の増加と共に赤血球内容 pH、血漿 pH は共に低下するが、両者の関係は大体に於いて血液にクエン酸、乳酸を添加して血漿 pH を低下させた場合のそれと同様であった。

終りに、御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜った斎藤教授に深謝致します。

文 献

- 1) 西田悦郎 (1957) 赤血球内容の pH 測定について (第Ⅰ編) 日本生理誌 19, 31
- 2) 西田悦郎 (1957) 赤血球内容の pH 測定について (第Ⅱ編) 日本生理誌 19, 38
- 3) 斎藤幸一郎・本田良行 (1955) 微量ガラス電極による血液 pH およびその温度係数の測定 日新医学 42, 167

Summary

Studies were made on the effect of the change in the reaction of human blood plasma upon the reaction of the contents of erythrocytes. Acidification or alkalization of the blood plasma was carried out in vitro by adding weak acids or sodium carbonate to it. In the untreated blood the pH of erythrocytes was lower than that of the plasma. The difference of these two pH values became greater by alkalization and smaller by acidification of the blood. And at a certain pH value of the plasma there was no difference

between the pH values of plasma and erythrocytes. This pH value (where $[H^+]_p = [H^+]_c$) was 6.6 to 6.7 in case that citric, phosphoric or lactic acid was used as an acidifying agent (Cf. Fig. 1, 2 and 3), however, it was 6.3 pH with acetic acid and less than 6.3 with carbonic acid (Cf. Fig. 4 and 5). When the plasma pH was lowered beyond this pH value, pH of erythrocytes became greater than that of plasma. According to the view of Donnan effect, this pH value was surmised to correspond approximately to the isoelectric point of the contents of erythrocytes composed mainly of hemoglobin.

In the human preserved blood, the pH-difference between plasma and erythrocytes was observed and found to be of the same order of magnitude as anticipated from the above-mentioned experimental results.

(from 1st Department of Physiology, School of Medicine, Kanazawa University)

ヒキガエルの膀胱排尿筋の電気曲線 612.467.1:612.733

The Electrogram of Detrusor Muscle in Toad's Bladder

高 木 孝 敬 (TAKAGI-Takayuki)*

I. 緒 言

膀胱排尿筋の電気曲線については従来殆んど研究されておらず、僅かに Rosenblueth¹⁾等が化学的興奮伝導説の検証実験として之に触れている程度である。近年 Bozler が平滑筋の活動電位について見事なる業績を発表しているが、膀胱には触れていない。著者は膀胱が Bozler⁵⁾ の分類による Visceral smooth muscle の代表的なものの1つであり、且つ、神経よりの単一刺激によって顕著な反応を示す点から、Visceral smooth muscle に於ける神経筋興奮伝導を探究する一方法として膀胱の電気曲線の研究に着手した。その自働収縮に伴う電気的变化を検した若干の結果を報告する。

II. 実験方法

ヒキガエルの膀胱の一部を直径約 2cm の円盤状或いは種々の大きさの長方形の条片として切り出し、之をコルク板上に張り、機械曲線と電気曲線とを同時に描記した。時には in situ の状態で懸垂された膀胱の一葉を実験に用いた。電気曲線の描記には直結増幅器及び電磁オシログラフ (横河製 3 エレメント型, H 型 Vibrator) を使用した。記録装置の感度は 1mV, が 3~5cm のフレを示す。

誘導電極には直径 0.1mm 或いは 0.2mm の銀線の周囲に絶縁エナメルを塗布し、先端のみ銀を露出し、之に塩化銀メッキしたものを用い、之をそれぞれ自由に彎曲する細銅線にて吊し、電極が膀胱の運動に伴って自由に動き得るようにした。両極間の距離は最小 0.1mm から最大 15mm まで種々の距離で誘導を試みた。極間距離 0.1mm 及び 0.2mm の場合は、予め絶縁エナ

メルにて、両極を所定の距離に固定した電極を使用した。また若干例に於いて一極を予め等張 KCl 溶液に浸漬した部位におき所謂単相性誘導とした。

機械曲線の描記には膀胱筋に接続した槓杆の動きを硫酸亜鉛溶液を充した円筒の電気抵抗の変化に転換し、Vibrator を用いて電気曲線と同時に記録した。

III. 実験成績

A. 電気曲線の多様性

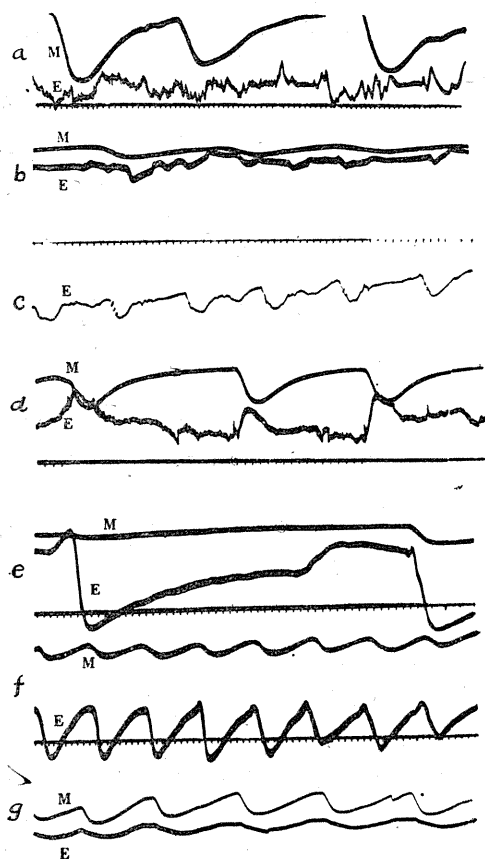
誘導電極間の距離を 0.5mm より 10mm まで種々に変じて双極性誘導を試みたが、綜括的に見て誘導電極間の距離による差よりむしろ標本の差による電気曲線の相違が、一層著しい。ここに標本の差というのは、1 つには標本が合胞体としてどの程度の完全性を持つかにかかり、他方また両誘導電極がたまたま置かれている部分の筋線維の活性度或いは線維の連絡方向などの偶然的要因に係わる。いずれも制禦し難い条件であって、同一の電極間距離で双極性誘導を行っても、劃一的な結果を得ることが著しく困難なのは全くこの故と考えられる。

実験結果として得られた 150 枚の電気図のうち極めて複雑な形状を示すものから、比較的単純な規則正しい形状を示すものまで、数種の類型として以下に示したい。

先ず最も複雑な電気曲線としては第 1 図 a に示す如く、機械曲線 (M) は極めて単純な週期的収縮を繰返せるにも拘らず、電気曲線 (E) は全く不規則な動きを見せ、そこに何等の週期性を認め得ない。

次に見出されるのは第 1 図 b の如く、一見不規則な電気曲線ではあるが、機械曲線の週期に対応して、電気曲線にも週期的繰返しが存在を

* 京都大学医学部生理学教室第 1 講座



第1図

ヒキガエル膀胱筋の電気曲線 (E) と機械曲線 (M)
(機械曲線は下向きが収縮)。時間記号 3''

a; 極間 2mm, in situ. b; 極間 5mm, 筋条. c; 極間 5mm, 筋条. d; 極間 3mm, in situ. e; 極間 2mm, 筋条. f; 極間 5mm, 筋条. g; 極間 5mm, 筋条.
(a……g はそれぞれ異った標本から得られた電気曲線を複雑なものから比較的単純なものへ順に並べたもの)。

暗示せるものである。b に於いては数個の両相性の電気的変動が収縮の一週期にほぼ正確に繰返されていることが知られる。

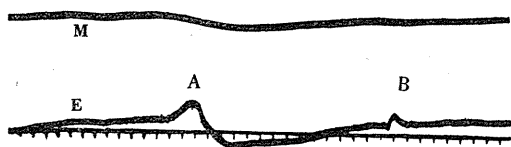
週期性が更に明らかなのは c 図である。一週期の変動が更に簡単なものとしては、d, e 図がある。更に f, g 図に示された電気曲線では一見機械曲線と見違えるほど単純な変動を呈している。

さて上記の如く電気曲線が機械曲線と一致する週期を示すといっても、その形状は勿論両者に於いて異っている。両者の形状の最も類似し

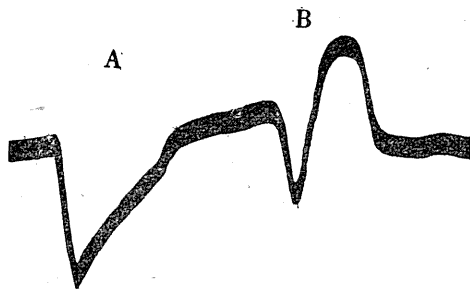
ているのは第1図 f, 及び g であるが、これとても同一の時間的経過を呈するものでない。即ち g は両者が最も相似た経過をとった例であり、収縮の開始と時間的に一致して電気曲線のフレを生ずるが、電気的変動の頂点は収縮曲線の頂点と一致せず、それよりも少し遅れている。また f の右半に於いては収縮曲線の上昇期に於いて電気曲線は両相性の変動を示し、電気曲線のフレの頂点は収縮曲線の頂点よりもむしろ先んじている。このような両種曲線の差異は、機械曲線が標本の全部分の収縮の総和を表わすに反し、電気曲線は偶々両誘導電極の置かれている部分の電位変動の差を表わす故と考えられる。

さて更に複雑な電気曲線については如何に考へべきか。先ず第1図 e について論じよう。e 図に於ける左端の電気曲線の最初の上方位位は収縮曲線の開始に先だっている。このように機械曲線に現われない電気曲線の変化は (1) 収縮過程と遊離した発電機構であるか、(2) 局所の収縮を惹起せるに拘らず、その収縮が余りに局所的に制限されていたため、或いは又その筋線維の走向がたまたま筋条片の懸垂方向に直角にあったため収縮曲線に現われなかったのか、これら2種の可能性が考えられる。(1)の想定は積極的な根拠のない限り軽々しく採用することは出来ない。これに反して(2)の想定は、膀胱の筋線維の走向が極めて不規則であらゆる方向に互っていること、またその合胞体としての整合性が容易に障害されることを考えると、極めてあり得べき仮定と言わねばならない。またこれが膀胱の電気曲線が複雑化する主な原因と考えられる。これらの点について以下少しく説明する。

第2図に於いては大なる収縮曲線に対応しては大なる両相性の電気変動 (A) があり、収縮の下降期に重って現われている小収縮に対しては、小なる单相性の電気変動 (B) が認められる。この小なる单相性電気変動は明らかに一誘導電極部に限局した収縮であり、他極には伝播しない収縮に伴うものである。



第2図 極間5mm, 筋条
収縮の大小に対応してA(両相性)とB(单相性)の
電気変動のあることを示す



第3図 電気曲線, 極間1mm, 筋条
Aは单相性, Bは両相性の変動

このように或る場合には伝播し, 他の場合には伝播しない収縮の例としては第3図に示した電気図も典型的であって, 同図(A)に於いては单相性, (B)に於いては両相性曲線が現われている。

以上の結果から考えると, 第1図a, bの如き複雑な電気曲線も結局は組織構造の複雑性に帰すべきであり, 各個の筋線維では収縮過程と時間経過を等しくする電位変化が生起していると見なす基本的想定を否定する証拠とはなり得ない。

B. 標本の大さと電気曲線の複雑さ

川端⁹⁾によれば, 膀胱の自発収縮は局所的に作用する多数のPace-makerの相互に無関係な週期的活動が重疊する結果として不規則な収縮を描くのであり, 膀胱を狭き条片としPace-makerの数を減少せしめることによって自発収縮に規則的な週期を与え得るという。本実験に於いてもこの事実は認められ, 多くの場合規則的な収縮を得る目的で筋条片を材料とした。

in situに於いて膀胱一葉の運動を描かせた場合には, 第1図aの如く機械曲線は比較的規則正しくとも電気曲線は不規則な場合が多い。但し時には電気曲線も亦規則正しい週期性を示す

ものにも遭遇した。これは要するに標本の生存状態の如何によるものと思われる。

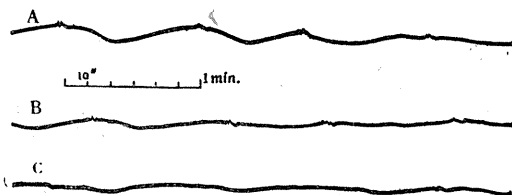
C. 極間距離と電気曲線 (微分誘導法による電気曲線)

双極誘導法に於いては両極部位の電気変化が同形であることが分析を便ならしめる所以であるため, 膀胱筋等に於いては両誘導電極をなるべく接近せしめて, 両極が同一の筋線維束上に位置する蓋然性を大ならしめるのが電気曲線を単純ならしめる1つの有力な方法と考えられる。著者も亦この考えから0.1mmまでの極間距離を試みたのであった。しかし結果から云えば2mm以下の極間距離では徒らに誘導し得る電位差を小ならしめるのみで波形には著しい差異を認め得なかった。

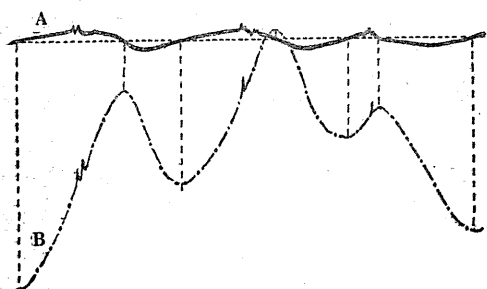
このように小さい極間距離での誘導では, 所謂微分誘導法として, 一局所に於ける電位変動の微分係数が曲線として表明される事になり, 少くとも原理的には, 得られた電気曲線を図形の上で積分することにより, 一局所に於ける電位変化を作図することが出来る筈である。著者も亦この方法によって若干の例について作図してみた。

第4図(A), (B), (C)はいずれも第1図cに示した電気図と同一の標本で得られたものであり, ただ極間距離が第1図cに於いては5mmであったものを第4図に於いては(A), (B), (C)の順序に2.5mm, 1.0mm, 0.5mmとして記録したものである。

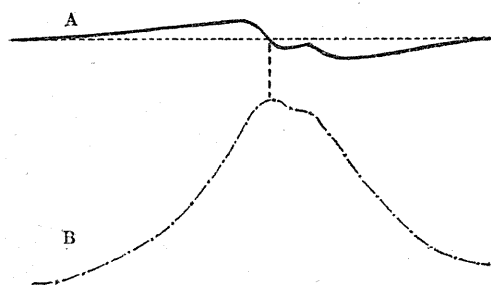
図に於いて明白なように2.5mm以下では曲線は殆んど同形であり, ただ振幅の減少, 及び変動の頂点に於けるスパイク波が却って不明瞭となるにすぎない。よって極間距離2.5mmの



第4図 電気曲線
第1図Cと同じ標本. 極間, A;2.5mm, B;1.0mm, C;0.5mm, A, Bにスパイク電位を見る。



第5図 A, 第4図Aの電気曲線
この緩徐波につき図上積分にて求めた積分曲線
(B)を示す。



第6図

A; 極間 0.5mm, 筋条の電気曲線. B; 積分曲線.

(A) 図について図上積分を試みると第5図の曲線 (B) が得られる。

また第6図の曲線 (A) は極間距離を 0.5mm とした場合に屢々遭遇する電気曲線であるが、積分により単純な曲線 (B) が得られる。

このような図形上での積分操作が意味を持つには、第1には両誘導電極下に於いて全く同型同大の電位変化が相ついで起っていること、第2には両極間の伝導時間、換言すれば両電位変化の時差が電位変動の週期に比較して或る程度小でなければならない(若林, 岩崎¹²⁾)。このうち第1の条件が膀胱に於いて充足されるや否やは大いに疑問としなければならない。また第2の条件は、緩徐電位については当然妥当すると考えてよいが、後にいうスパイク電位については、その持続が短いため許され得ない。従って第5図(B)の積分曲線は緩徐電位についてのみ意味を持つものであり、スパイク電位はただその発生の時期を示す意味から、任意の大きさに書入れたにとどまる。

以上の理由から、ここに得られた積分曲線を

以て一極部に於ける電位変化の忠実な表現と見做すことには難点がある。

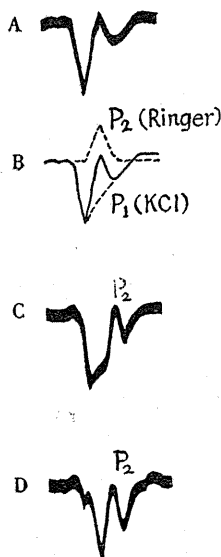
D. 単極誘導による電気曲線

膀胱筋条の一端を 0.89% KCl 溶液に 5 分間浸漬した後、筋条をコルク輪に橋架してはり、一極を KCl 部に、他極を健常部の中央部におき、いわゆる単相性に誘導すると第7図(A)の如き電気図が得られる。即ち先ず収縮の開始とともに健常極の陽性変動がおこり、ついで陰性、再び陽性の三相性の変化を呈する。これは恐らく KCl 作用部の電極には第7図(B)の P_1 に示す如き陰性変動、健常部電極には同図 P_2 の如き陰性変動が生じ、両者の代数和として第7図(A)の電気曲線が得られたものと考えられる。時には同一誘導条件で第7図(C), (D) の如き一層複雑化した曲線が得られる。これらもすべて P_2 が健常極の主陰性波と見做すべく、他はいわゆる無関電極たる KCl 作用部の電極が筋条健常部全体の電位変動を感受せるものと見做される。

即ち KCl 作用部の筋条組織が電極の延長として作用せるものと考えねばならない。従ってかかる方法も決して一局所の電位変動を記録する方法とは云えない。

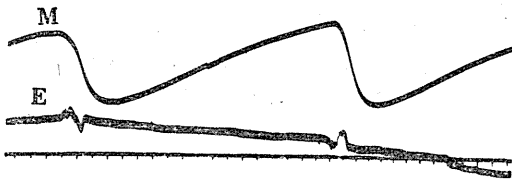
E. スパイク電位と緩徐電位

以上に述べたのは収縮過程と時間的経過を等



第7図

A, C, D は1極を KCl 作用部に、他極を Ringer 作用部において誘導した電気曲線
B は A を兩成分に分解したもの。



第8図 緩徐電位よりもスパイク電位の著明な例

しくする緩徐電位についてであるが、場合によってスパイク電位と思われる比較的経過の短い電位変動が数個連続して出現することがある。第1図Cの緩徐電位の上昇期（図では下方移動）に認められるもの、或いはこれと同一標本で得られた第4図（A）、（B）に認められるもの、及び第8図に示したものがその例である。第1図cは極間距離5mmで誘導されているが、他は2.5mm乃至1mmであり、或る程度極間距離の短い方がスパイク電位の現われることが多い。第8図は第1図gと同一標本で極間距離を2mmに接近せしめたときに現われたものである。

収縮の上行脚の前半期に当って両相性変動があり、その上に細かい数個のスパイクがいずれの相の上にも重畳している。第2の収縮は機械曲線では第1の収縮と同形であるが、電気曲線では第1のものと位相が反転している。即ち収縮が逆方向に伝っていることが知られる。恐らくは両誘導電極が収縮の伝播の方向とはほぼ直角の方向に2mmを隔てて位置していたと思われる。これはスパイクに続く緩徐電位が著しく小なることから推測される。

IV. 考 察

緒言にも触れた如く、膀胱の電気曲線の研究は極めて少い。その理由の1つは上述の如く、膀胱では一定した電気曲線が得難いことにあると思われる。しかし膀胱がBozlerの分類による内臓筋の典型的なものの1つである点からしてもこれをなおざりに過すことは許されない。上に得た結果を一般の平滑筋について我々の得ている事実と対照して少く考察を加えたい。

平滑筋の電気曲線については古来多数の研究があるが、比較的新しい研究としては Rosenblu-

eth, Bozler, Bülbring 等の研究が注目される。Rosenblueth, Leese and Lambert¹¹⁾はネコの瞬膜、立毛筋、膀胱、妊娠子宮について実験し、筋に起源を持つ電気的变化に初期電位（initial potential）と遅発電位（delayed potential）とがあることを指摘している。Bozler^{1)~7)}は更に誘導方法を改良し、微小電極を用いて諸種哺乳類の胃、小腸、子宮、尿管等について実験し、スパイク電位と緩徐電位よりなる電気曲線を得ている。Bozlerが見事なスパイク電位を記録し得たのは微小電極を用いた為であった。その後丹生¹⁰⁾は哺乳類の子宮、尿管、胃、腸等につき広汎な研究を行い、平滑筋の本質的な電気変化としてスパイク電位をとるべきことを主張している。最近のBülbring⁸⁾の細胞内電極法による研究に於いても、平滑筋にスパイク電位の発生することは疑いのないところである。

本実験に於いて使用した誘導電極は直径0.1~0.2mmであるから、Bozlerの使用したものと比較して当然スパイク電位が記録されてよいわけである。しかし多くの例に於いて電気曲線は平滑に経過し、スパイク電位を認め得なかった。しかし若干の例に於いて之を認め得たことは、ヒキガエルの膀胱に於いてもスパイク電位の存在することを裏書するものと云ってよい。

極間5mmで得られた第1図cに於けるスパイク電位の持続は約1sec、同一の標本に於いて2.5mmの極間距離を以て得たスパイクの持続は約0.7sec（第4図A）、極間距離1mmでは持続約0.5sec（第4図B）、極間距離0.5mmでは緩徐電位と共にスパイク電位も低下して認められなくなっている。即ちこの例では一局所に於けるスパイク電位の持続は1sec以上であり、その伝播速度は $2.5 \div 0.7 = 3.5 \text{ mm/sec}$ 以上と推定される。他方第8図に見られるスパイク電位は、持続は更に短く、0.2~0.3sec、反復性に数個のスパイクが続発している。その両相性変位の位相差は約2.0sec、これから速度を計算すると約1.0mm/secとなる。けだし線維の走向等を考慮すれば、収縮が両極間の最短距離を通過するとは限らないから、ここに得られた数値

はいずれも可能な最小限度の伝播速度を示すものであることは明らかである。

Bülbring の研究結果よりするも明らかな如く、平滑筋に於けるスパイク電位は極めて小である。平滑筋のうちでもヒキガエルの膀胱の如く緩徐な反応を示すものに於いては之が一層不著明であることが推測され、誘導電極の偶々の位置により之が発見されない場合があっても、あながち膀胱に於けるスパイク電位の存在を否定することにはならない。

V. 摘 要

1. ヒキガエルの膀胱を *in situ* にて懸垂し或いは膀胱より筋板若くは筋条を作製し、微小銀塩化銀電極にて自働収縮に伴う電気変化を誘導し、直結増幅器を経てオッシログラフに導き、電気曲線を描記、同時に描記した機械曲線と比較した。誘導は種々の極間距離での双極誘導を主とし、少数例に於いて単極誘導を試みた。

2. 標本の異なるにより電気曲線は機械曲線とは無関係な複雑な小変動を多数に示すものから、殆んど機械曲線と相等しい時間的経過を示すものまで種々の形状を示す。

3. これら電気曲線を分析する事によって、先ず収縮曲線と時間的経過を等しくする緩徐電

位が基本的電位変化なることが知られる。

4. 若干の標本に於いて、収縮の初期に一致して数個のスパイク電位の続発するのが認められた。

文 献

- 1) Bozler, E. (1942) The action potentials accompanying conducted responses in visceral smooth muscles. *Am. J. Physiol.* 136, 553-560
- 2) Bozler, E. (1945) The action potentials of the stomach. *Am. J. Physiol.* 144, 693-700
- 3) Bozler, E. (1946) The relation of the action potentials to mechanical activity in intestinal muscle. *Am. J. Physiol.* 146, 496-501
- 4) Bozler, E. (1947) The response of smooth muscle to stretch. *Am. J. Physiol.* 149, 299-301
- 5) Bozler, E. (1948) Conduction, automaticity, and tonus of visceral muscles. *Experientia* 4, 213-229
- 6) Bozler, E. (1949) Myenteric reflex. *Am. J. Physiol.* 157, 329-337
- 7) Bozler, E. (1949) Reflex peristalsis of the intestine. *Am. J. Physiol.* 157, 338-342
- 8) Bülbring, E. (1954) Smooth muscle potentials recorded in the taenia coli of the guinea-pig. *J. Physiol.* 123, 55-56
- 9) Kawabata, G. (1951) Nature of auto-rhythmic contractions in toad's bladder. *Jap. J. Physiol.* 1, 233-239
- 10) 丹生治夫 (1950) 平滑筋の偽作流について 日本生理誌 12, 学 34
- 11) Rosenblueth, A., C. Leese and E. Lambert (1933) Electrical potentials in smooth muscle. *Am. J. Physiol.* 103, 659-680
- 12) 若林 勲・岩崎静子 (1950) 二相性活動電流の分析に就いて 日本生理誌 12, 学 66

Summary

The electrical activities accompanying the auto-rhythmic contractions of detrusor muscle in toad's bladder suspended *in situ* or of either circular plates or narrow strips excised from a bladder wall were recorded with a direct-coupled amplifier and an oscillograph, and compared with the mechanogram simultaneously recorded. Lead electrodes were chlorided silver wires of 0.1 or 0.2mm in diameter, each suspended with a thin, flexible copper wire, and located apart from each other by varied distances 0.1~15mm.

Various grades of complexity were found in the form of the electrogram in spite of the relative simplicity of the mechanogram (Fig. 1, a-g). The difference in the complexity seems to be attributable to the grades of integrity in the syncytial character of the muscle and also to the anatomical complexity of the network of fiber bundles. The simplest electrogram showed slow deflections of almost the same time course as that of contraction curves.

From the analysis of 150 electrograms it was concluded that the slow electric deflection showing the same time course as the mechanogram is typical electric activity of the detrusor muscle. Spike potentials were also found on occasion on the rising phase of the slow wave.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto Univ.)

ヒキガエルの膀胱の運動性神経支配機構について 612.467.1:612.738

On the Motor Innervation of Toad's Bladder

高 木 孝 敬 (TAKAGI-Takayuki)*

I. 緒 言

ヒキガエルの膀胱排尿筋の生理学的性質については、先に川端⁶⁾⁷⁾、市河⁵⁾等の詳細なる報告があるが、膀胱排尿筋を支配する神経、殊に運動性神経の生理学的諸性質については殆んど報告されておらず、僅かにSteinach¹²⁾、Bernheim¹⁾、Langley and Orbeli⁸⁾⁹⁾等がカエル、ヒキガエルなどにつき膀胱の神経支配について述べている程度である。

著者はヒキガエルの膀胱へ運動枝を送る第X前根及び第X脊髄神経が、単一開放感応電撃に応じて排尿筋の収縮を惹起することを知り、それら神経の膀胱排尿筋支配機構を解明する目的で一連の実験を行った。

II. 実 験 方 法

先ずヒキガエルを腹位に固定し、背面より脊椎腔を開き、すべての前根及び後根をなるべく脊椎に近く切断(第X前根は予め結紮しておく)し、その後脊椎を除去する。次にヒキガエルを背位に於いて固定し、先ず腹部皮膚を切開し、腹部内臓を除去し、次に頭部及び四肢を切断する。腰部及び大腿部の諸筋をなるべく完全に除去し、神経を刺戟した際のこれらの諸筋の収縮が、膀胱筋の収縮に影響を与えないようにする。このようにして第X前根、第X脊髄神経、坐骨神経、膀胱を脊柱及び腰部の骨及び軟骨組織に附着せしめたまま取出し、これを湿室中に入れ、膀胱の同側葉の遊離端をセルフインでつまみ、これを吊上げて筆杆に連絡し、キモグラフィオン上の塗煤紙に膀胱の収縮曲線を描かしめる。

刺戟装置としては橈状感応コイル及び銀一塩

化銀電極を使用した。100msec 以内の時間間隔で神経に2重刺戟を与えるには、2個の感応コイルを使用し、夫々の1次回路に石川式レオトームのコンタクトK₁、K₂を挿入し、夫々のコンタクトの開放に応じて単一下向性開放感応電撃が加えられるようにした。

III. 実 験 成 績

A. 膀胱を支配する運動神経の経路

ヒキガエルの膀胱排尿筋の運動性支配神経が、VIII、IX、X、XIの脊髄前根に含まれていることは、それら前根に単一感応電撃或いは反復性感応電撃を加えることによって容易に証明される。その後我々の教室の千葉・及び松田により更に詳細な神経の走路が決定された(千葉・高木・松田²⁾)。

それによると、X、XI前根の刺戟が最も容易に膀胱の強大な収縮を惹起し、反対にIXは最も作用弱く、単一刺戟によっては膀胱の収縮を認め得ない。更に走路の追求によりX、XIを通る線維は副交感神経、VIIIを経て走る線維は交感神経に属し、IXには恐らく両者が含まれていることが判明した。以下に述べる実験では第X前根或いは第X脊髄神経に単一刺戟を与えて起る膀胱筋の収縮を目標としているので、実験の結果は第Xの副交感神経線維に妥当するものと考えられる。

B. 自働収縮の各時期に神経に加えられた単一刺戟による膀胱の収縮高について

自働収縮を行っている膀胱につき、自働収縮の一定の時相に第X脊髄神経に単一刺戟を加えると、約1秒の潜伏時の後、新しい収縮が惹起される。この収縮の高さは、閾刺戟に於いて最小、その後刺戟強度を増すにつれて、漸次増大し、結局一定の極大収縮高に達し、その後は刺

* 京都大学医学部生理学教室第1講座

戟を増強すると収縮高の増大を見ない。極大収縮高は以下に述べる如く、刺戟の時点が自仭収縮の如何なる時相に落ちるかによって異なるが、いずれの場合に於いても自仭収縮よりも大、且つその収縮の時間的経過が、自仭収縮に比し常に短く、且つ一定であるので、人工刺戟による収縮を自仭収縮より識別することは容易である。

極大神経刺戟による膀胱の極大収縮と自仭収縮の各時相との関係は次の如くである。

a. 神経刺戟による極大収縮は自仭収縮の休止期に於いて最大である。

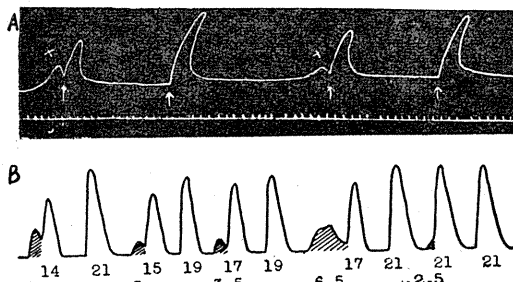
b. 自仭収縮の下降期に加えられた神経刺戟による極大収縮は、それが下降期の末期にあたるほど大である。

c. 自仭収縮の上昇期に加えられた神経刺戟による極大収縮は休止期に於けるそれにほぼ相等しい。

第1図Bは半模型的な収縮曲線であるが、上記の関係を表明している。図に於いて斜線を附した部分は自仭収縮、斜線なき収縮曲線は神経刺戟による極大収縮を表わす。

上記bの結果の生ずる理由は、自仭収縮による収縮性の低下が未だ充分に恢復していない時期に神経衝撃が筋に到達するためと言わねばならない。

以上の実験の結果、単一極大収縮の収縮高を



第1図

第X脊髄神経に加えた単一極大刺戟による膀胱の収縮・自仭収縮の位相と極大収縮高との関係を示す。Aはその一部の曲線、Bは半模型的表示。Aの×印及びBの斜線部は自仭収縮、其他は神経刺戟による極大収縮。Bの下の数字は基線より測定した収縮高。室温 18°C。

なるべく恒常ならしめるためには、休止期の比較的末期に極大刺戟を神経に加えればよいことを知った。

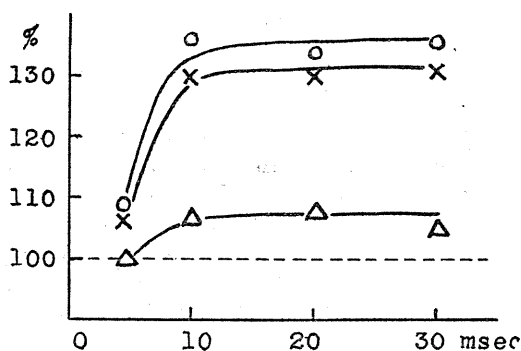
C. 神経の2重刺戟による膀胱の収縮高と刺戟間隔との関係

前節の実験に於いて単一の神経刺戟に対し、膀胱が一定の極大収縮を呈することが判明した。このことは神経の衝撃が線維の末端に到達した際、そこに遊離される化学的伝達物質の一定量が、筋の一定度の収縮を惹起したことを意味する。さてしからば、第1刺戟後短時間のうちに神経に加えられた刺戟によって生じた第2の神経衝撃が更に一定量の伝達物質を遊離する場合、筋収縮に認むべき変化を生ずるや否や、若し平滑筋の絶対不応期が神経刺戟に対しても不応期として作用するものならば、第2の刺戟が収縮高の増大を来すためには、刺戟間隔がかなり大とならねばならぬ筈である。また若し平滑筋が神経刺戟に対して絶対不応期を表わさないのであるならば、収縮高の増大を指標として神経の絶対不応期が測定し得る筈である。

以上の点を明らかにするために、第1刺戟を初極大刺戟より巻軸距離を 1cm 減じた程度とし、第2刺戟を更に強めた一定強度の単一開放感応電撃として、時間間隔を種々に変じ、第X脊髄神経に加え、収縮高の変化を検した。

刺戟間隔は 2.5msec より始まり、2.7msec、4.3msec と次第に延長し、10msec、後は約10～20msec ずつ延長し、100msec に及び、以後は1'', 2'', 3'', 5'', 6'', 7''……10'', 15''とした。多くの標本に於いて第1刺戟による極大収縮の上向脚の長さは約 7sec であった。実験の結果を見ると、刺戟間隔 2.5msec 及び 2.7msec では収縮高の増大は不明瞭であるが、4.3msec ではすべての例に於いて単一極大収縮よりも大なる収縮となる。しかも加重収縮の高さは刺戟間隔の延長と共に急激に増大し、約 10～15msec で既に最高に達し、更に刺戟間隔を延長しても収縮高の変化を認めない(第2図参照)。

更にここで問題としたのは、かかる初期の加重収縮の後にさらに長い刺戟間隔で筋の不応期

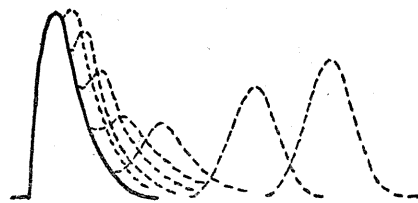


第2図

神経2重刺激の時間間隔(横軸)と加重収縮高(縦軸, 単一極大収縮を100とする)との関係
実験例3例の結果を示す。

が出現するか否かであったが, かかる不応期の存在は認められなかった。即ち, 第2刺激が4.3msec以後如何なる刺激間隔に於いて神経に加えられても, 収縮高の増大或いは新しい収縮の出現としてその刺激の効果が現われることが判った。第1刺激による収縮高の90%の高さに達する時点迄に第2刺激が加えられた場合は, 加重収縮は常にあたかも単一収縮なるが如き平坦な曲線を示し, しかもその収縮高は単一収縮の最高約50%の増加を来す。それ以上の刺激間隔では, 或いは上向脚に屈折を生じ, 又或いは二峯性の収縮を来す(第3図参照)。これらのことは大体に於いて骨格筋に於ける加重収縮と相似ているが, 下向脚に於ける第2刺激による収縮が第1の極大収縮よりも小さいという点は骨格筋の場合と異っている。

以上の結果はヒキガエルの膀胱筋は神経衝撃に対し, 絶対不応期を示さないと考えて説明される。



第3図 加重収縮曲線

第2刺激が第1刺激による極大収縮(実線)の下降期に神経に加えられた場合の, 第2収縮の高さ(点線)の変化を示す。

IV. 考 察

ヒキガエルの膀胱の自収縮が各局所に於ける pace maker の活動に由来する局所的な小自収縮の集合よりなり, またその故に綜合された自収縮が不規則性を示すことは既に川端⁶⁾が論じている。神経刺激による極大収縮が自収縮のいずれの位相にも加重し得ることは, 通常, 膀胱筋層を構成せる平滑筋線維の一小部分のみが1つの自収縮に関与していることを示している。またそれ故に神経刺激の極大収縮が通常の自収縮よりも遙かに大なる収縮を呈するわけも明白である。ただ自収縮下降期に生じた神経性極大収縮が, より末期に生じた神経性極大収縮に比して小なることは, 自収縮に関与せる筋線維と神経性極大収縮に関与せる筋線維とが, 一部重複せることを示し, ここに極大収縮高の低下の原因として第1に収縮後の収縮性の低下, 第2に神経衝撃に対する平滑筋の絶対不応期の存在なる2種の要因を考えねばならぬこととなる。

しかし, これら2種の要因のうち, 後者については, C節の実験がこれを否定している。即ち, 数 msec 以上の刺激間隔で加えられた神経2重刺激が単一極大刺激による収縮よりも著明に大なる収縮を示すこと, 及びその加重収縮高が刺激間隔約10~15msecに於いて既に極大に達することは, 神経刺激に対して平滑筋が絶対不応期を示さないことを意味している。神経衝撃の作用はその線維の末端から遊離される化学的媒介物質の量によるのであり, 筋はこれに応じた収縮を呈する。筋収縮の既に始まった後に於いても第2の神経衝撃によって遊離された媒介物質は常に収縮を増強する作用を有するものと考えられる。従って, 自収縮下降期に生じた神経性極大収縮が, より末期に生じた神経性極大収縮よりも小なる理由は, さきに挙げた第1の要因に基くと考えねばならない。

さて, 平滑筋の不応期につき従来の研究を調べると, 膀胱筋については何等報告されていない。尿管の如き悉無法則に従った収縮を示すも

のでは1~2secに及ぶ明白な絶対不応期が見出されている(大谷・高木¹⁰⁾).

又ネコの瞬膜については Eccles and Magladery⁴⁾ は除神経瞬膜の電気曲線の研究から0.2secよりも短い不応期を持つと主張しており、また Eccles³⁾ は神経2重刺激の作用を瞬膜について検した結果、神経衝撃に対し、瞬膜が55msecの不応期を持つと云っている。これに対し Rosenblueth and Acheson¹¹⁾ は瞬膜の機械曲線を指標とする場合には支配神経の絶対不応期(2msec)よりも長い不応期は認められないといっている。Eccles と Rosenblueth 等の結果の差は、明らかに指標とする現象の相違に基づくのであり、事実の差異というよりも、不応期なる言葉の定義の如何によるといえる。本研究のヒキガエルの膀胱筋に於ける結果は正に Rosenblueth 等の瞬膜の結果に一致している。

V. 摘 要

1. ヒキガエルの第Ⅹ前根或いは第Ⅹ脊髄神経に単一開放感応電撃を加えると、膀胱同側葉に顕著な相性収縮が起る。

2. 神経に2重刺激を加えて膀胱筋の収縮高を検すると、4msec以上の刺激間隔では、すべて単一極大刺激による収縮高よりも大なる収縮が起る。この加重収縮高は刺激間隔約10~15msecにて既に極大に達する。

3. 上記の事実は、膀胱の排尿筋が神経衝撃

に対しては不応期を有しない事を示している。

文 献

- 1) Bernheim, J. (1892) Die Innervation der Harnblase beim Frosche und Salamander. Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt., Suppl. 11-28
- 2) 千葉康則・高木孝敬・松田昇彦 (1954) 蟾膀胱の運動性神経支配について 日本生理誌 16, 429-430
- 3) Eccles, J. C. (1936) Synaptic and neuro-muscular transmission. Ergebn. Physiol. 38, 399-444
- 4) Eccles, J. C., and J. W. Magladery (1937) Responses of denervated smooth muscle. J. Physiol. 89, 45-46P
- 5) 市河三太 (1951) 膀胱平滑筋の直流及び交流刺激の閾値並びに応答時について 昭和医大生理学教室論文集 2, 29-44
- 6) Kawabata, G. (1951) Nature of auto-rhythmic contractions in toad's bladder. Jap. J. Physiol. 1, 233-239
- 7) Kawabata, G. (1951) Mechanical responses of smooth muscle electric stimuli. Jap. J. Physiol. 1, 277-289
- 8) Langley, J. N., and L. A. Orbeli (1910) Observations on the sympathetic and sacral autonomic system of the frogs. J. Physiol. 41, 450-482
- 9) Langley, J. N., and L. A. Orbeli (1911) Some observation on the degeneration in the sympathetic and sacral autonomic nervous system of amphibia following nerve section. J. Physiol. 42, 113-124
- 10) 大谷卓造・高木作治 (1942) 輸尿管の絶対不応期に及ぼす電気緊張の影響 日本生理誌 7, 281-285
- 11) Rosenblueth, A., and G. H. Acheson (1937) Does nictitating membrane of the cat have a refractory period? Am. J. Physiol. 120, 514-521
- 12) Steinach, E. (1895) Motorische Funktionen hinterer Spinalnervenwurzeln. Pflüger's Arch. 60, 593-622

Summary

Toad's bladder responded with a conspicuous phasic contraction to a single opening induction shock delivered to the 10th ventral root or the 10th spinal nerve. When double shocks, whose shock interval was longer than 4 msec, were applied to the nerve, contractions were elicited with a magnitude higher than that evoked by single shock stimulation. The size of the summated contraction became highest already with a shock interval as short as 10~15msec. It was concluded from these findings that the detrusor muscle in toad's bladder showed no refractory period to nerve impulse.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto Univ.)

ヒキガエルの膀胱を支配する運動神経の

恢復曲線と電圧期間曲線 612.816.1:612.467.1

The recovery curve and the Voltage-Duration Curve
of Motor Nerves to Toad's Bladder

高 木 孝 敬 (TAKAGI-Takayuki)*

I. 緒 言

著者の教室に於ける研究によって、ヒキガエルの膀胱を運動性に支配する神経線維はⅧ, Ⅸ, X, XIIの脊髓前根に含まれていること(千葉・高木・及び松田²⁾), またそれらのうちX, XII前根或いはX, XII脊髓神経は単一の衝撃によって膀胱に顕著な相性収縮を惹起し得ることが判明した(高木⁴⁾). この事実を利用して、神経に2重刺激を与えた際の膀胱の収縮高の観察から著者は先に膀胱の運動性神経支配機構について論じた(高木⁴⁾). このように、第X前根に含まれる膀胱の運動性神経線維が副交感神経従ってB線維に属し、且つその単一衝撃が膀胱筋の収縮を惹起し得ることが判明しているのので、著者は逆に膀胱の収縮高を指標として、B線維の刺激生理学的性質を研究する目的で、その恢復曲線及び電圧期間曲線を求めた。

II. 実験方法

前報告に記載した如く、ヒキガエルの第X前根、坐骨神経、膀胱排尿筋標本を作製する(高木⁴⁾). 恢復曲線を求めるためには開放感應電撃を種々の刺激時間間隔を以て第X前根或いは第X脊髓神経に与える(装置については前報告参照)。

電圧期間曲線を描くためには、刺激として平流を用い、抵抗単弦による分圧法により、銀—塩化銀電極によって第X前根または脊髓神経を刺激した。電極と直列に10k Ω , 並列に5k Ω の抵抗が挿入

されている。2つの電鍵の開放は石川式 Rheotom によった。

III. 実験成績

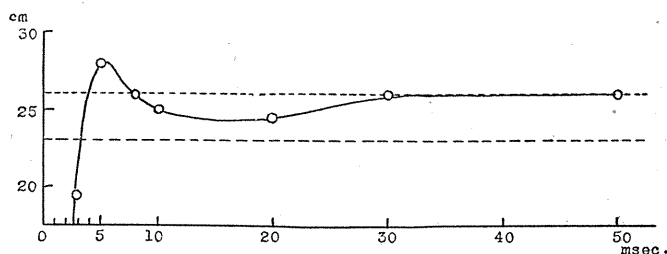
A. 膀胱支配神経の恢復曲線

前報告に述べた如く、2重刺激による膀胱収縮高の増大は、運動神経に第2の衝撃の発生したことを示すものであり、且つ神経刺激に対して排尿筋そのものは不応期を示さないと考えられるから、膀胱の収縮高の増大を指標として支配神経の興奮性の恢復曲線を描くことが出来る。

第X前根及び第X脊髓神経につき、それぞれ10例の実験を行ったが、その代表例を第1図及び第2図に掲げる。

第X前根に於ける測定では、室温14.5~21.0°Cに於いて絶対不応期2.0~3.0msec, その後興奮性は急速に恢復して約2msecの相対不応期の後、全例に於いて明白な過常期を示す。過常期は5~10msecを持続し、後、軽度の次正常期に入る。次正常期の長さは標本により差が著しいが第1刺激後20~30msec以内に終るものが大多数であった。

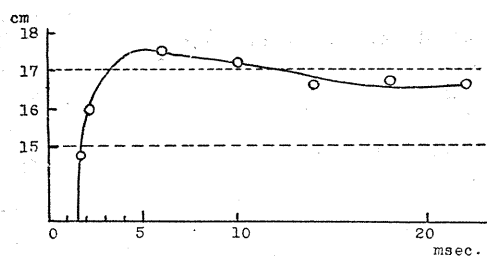
第X脊髓神経について求めたものも前根につ



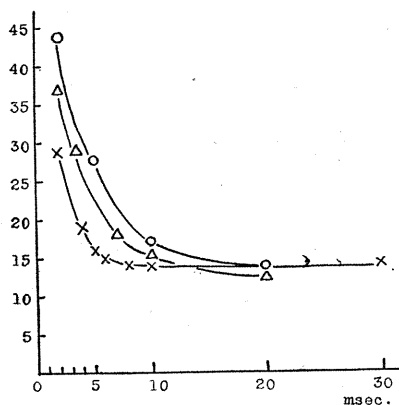
第1図 第X前根の恢復曲線

横軸：刺激時間間隔。縦軸：第2刺激閾値(コイル距離)。室温21.0°C
点線は第2刺激を単独に加えた場合の閾値。破線は同じく極大値。

* 京都大学医学部生理学教室第1講座



第2図 第X脊髄神経の恢復曲線
室温 18.0°C. 説明第1図に同じ.



第3図 電圧期間曲線
縦軸: 刺激電圧 (単位任意), 横軸: 通電期間,
×印は第X前根 (室温 22.0°C), △印及び○印は
第X脊髄神経 (共に室温 26.0°C).

いて求めたのと同様であった.

B. 電圧期間曲線

第X前根及び第X脊髄神経について測定したが、両者に於いて差を認めなかった。従って、第X脊髄神経には第VIII乃至第IX前根に含まれている交感神経性の線維も存在する筈であるが、電圧期間曲線としてはいずれの期間に於いても閾値の低い副交感神経線維の興奮性が測られていると考えねばならない。

電圧期間曲線は必ずしも Weiss の式によく合致するとはいえない。室温 22~26°C に於いて時値 4~6 msec の値を得た (第3図参照)。

IV. 考 察

第X前根を経て、膀胱を運動性に支配する神経線維は副交感神経性の節前線維なることが推測され (千葉・高木・松田²⁾), 従って Bishop and Heinbecker¹⁾, Grundfest³⁾等の分類による

B (乃至 B₂) 線維に属すると考えられる。絶対不応期及び時値の長さより見てもこれが妥当なることは明らかである。唯, Grundfest³⁾ は猫の下腹神経内のB線維が興奮性の恢復にあたり過常期を呈しないことを強調し、これをB線維の1つの特徴に数えているが、本実験の結果ではすべての例に於いて著明な過常期を認めた。従って Grundfest の所見は必ずしも温血冷血を通ずるあらゆるB線維の特徴とはいえない。

元来B, C両種の神経線維は自律神経系に属するものであり、従ってまた一般に反復性神経 (iterative nerve) であるから、支配器官の反応を目標として神経の被刺激性を検するには反復性刺激を用いねばならない。しかるにヒキガエルの膀胱に於いては単一刺激によって容易に運動性支配神経の被刺激性を検し得るという点でB線維の研究には好個の対象と考えられる。

V. 摘 要

1. ヒキガエルの第X前根或いは第X脊髄神経に単一開放感応電撃を2重刺激として与えることによって起る膀胱の加重収縮を指標とし、膀胱を運動性に支配するB線維の興奮性恢復曲線を求めた。全例に於いて明白な過常期を認めることは従来一般に線維の特徴と見做されていた事実と反し、注目すべきである。

2. 上記の神経に平流刺激を行い、電圧期間曲線を描いた。

3. 絶対不応期 2~3 msec, 時値 4~6 msec, (室温 18~21°C) であって、B線維として妥当である。

文 献

- 1) Bishop, G. H. and P. Heinbecker (1930) Differentiation of axon types in visceral nerves by means of the potential record. *Am. J. Physiol.* 94, 170-200
- 2) 千葉康則・高木孝敬・松田昇房 (1954) 囊膀胱の運動性神経支配について *日本生理誌* 16, 429-430
- 3) Grundfest, H. (1939) The properties of mammalian B fibers. *Am. J. Physiol.* 27, 252-262
- 4) 高木孝敬 (1957) ヒキガエルの膀胱の運動性神経支配機構について *日本生理誌* 19, 57

Summary

Using the summated contraction of the bladder as an indication, the time course of the recovery of excitability in 10th ventral root or 10th spinal nerve of toad was explored.

The nerve fibers innervating the bladder showed a marked supernormal phase, that seems worthy of note, in view of the fact that the fibers are autonomic preganglionic, and consequently belong to Group B.

The voltage-duration curves were obtained from experiments in which these nerves were stimulated with constant currents. The absolute refractory phase was 2~3msec and the chronaxie was 4~6msec, both being reasonable as B fibers in the cold blooded animal.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto Univ.)

膀胱の運動性神経支配に対する Ephedrine

及び Cocaine の作用 612.467.1:612.738:612.014.465

The effects of Ephedrine and Cocaine on the Motor
Innervation of Toad's Bladder

高 木 孝 敬 (TAKAGI-Takayuki)*

I. 緒 言

ヒキガエルの膀胱排尿筋を運動性に支配する神経線維を含む第Ⅷ乃至第Ⅺ前根のうち、第Ⅹ及び第Ⅺ前根は単一刺激により通常顕著な相性収縮を現わすが、第Ⅷ及び第Ⅸ前根は単一刺激によっては筋に収縮を惹起し得ない。この点に於いても既に膀胱に対し、後両者が前両者と異った運動性神経支配機構を有することが推測される。他面に於いて千葉・高木・松田⁴⁾等の研究結果から、Ⅷ前根に含まれるものは交感神経性、Ⅹ、Ⅺ両前根に含まれるものは副交感神経性、Ⅸ前根は両者を含む(?)と推定されている。著者は之等両種の支配機構の差異を薬理学的に確め様と思ひ、Ephedrine 及び Cocaine の作用を検した。従来の研究によると、Ephedrine 及び Cocaine は共に Adrenaline 乃至 Sympathin の作用を強化するといわれる。またこれらは共に Adrenaline 乃至は Sympathin を生体内に於いて無効ならしめる。amine oxydase の作用を抑制するといわれている。若しこれが真ならば、正常時には無効である単一刺激も、これら薬物の作用時には有効となるかも知れない。これらの点を実験的に確めようと思って下記の実験を行った。

II. 実験方法

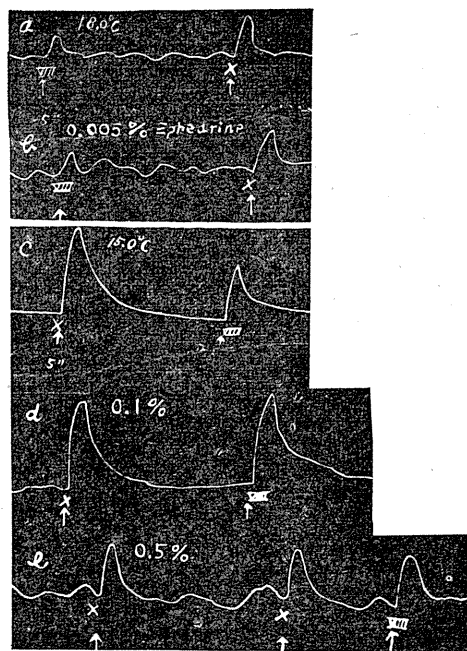
著者の前報告⁸⁾に述べた方法により、第Ⅹ前根を含む膀胱筋神経標本を作製し、膀胱一側葉を懸垂しその運動をキモグラフィオンにて描記する塩酸 Ephedrine (大日本製薬製品) 及び塩酸 Cocaine は Ringer 溶液として懸垂された膀胱に滴下した。

神経に与える刺激としては槌状感應コイル及

び Wagner 槌による反復性感応電撃を用いた。

III. 実験成績

先ず薬品を膀胱に作用させる前に、対照として第Ⅷ及び第Ⅹ前根に反復性感応電撃を与え、適當の大きさの膀胱の収縮を來す刺激持続時間を決定する。第Ⅹ前根については1sec、第Ⅷ前根については5sec、或いは10secの持続が適當であった。その後所定濃度の Ephedrine 或いは Cocaine-Ringer 溶液を膀胱に滴下し、再び同一の刺激を与えて収縮高の変化を検した。



第1図

a. 対照。矢印にて第Ⅷ前根 (5'' 持続) 或いは第Ⅹ前根 (1'' 持続) に反復性感応電撃を与える。b. 上の標本に0.005% Ephedrine 溶液を作用させ10min後の曲線。c. 別の標本。対照。矢印にて第Ⅹ前根 (1'' 持続) 或いは第Ⅷ前根 (10'' 持続) に反復性感応電撃を与える。d. 上の標本に0.1% Ephedrine 溶液を作用させ5min後の曲線。e. 同上0.5% Ephedrine 溶液作用後8min。

* 京都大学医学部生理学教室第1講座

A. Ephedrine の作用 (第1図)

0.005%乃至0.5%溶液の作用を検した。濃度の増すに従い、自収縮が盛んとなる。自収縮は非同期的であり、大小不同の不規則な収縮曲線を画く。

第Ⅷ前根刺激の效果は0.1~0.2%に於いて著明に増大、且つ反復性の数個の収縮を惹起する傾向が強い。但し単一刺激によって膀胱の収縮を認め得なかった。

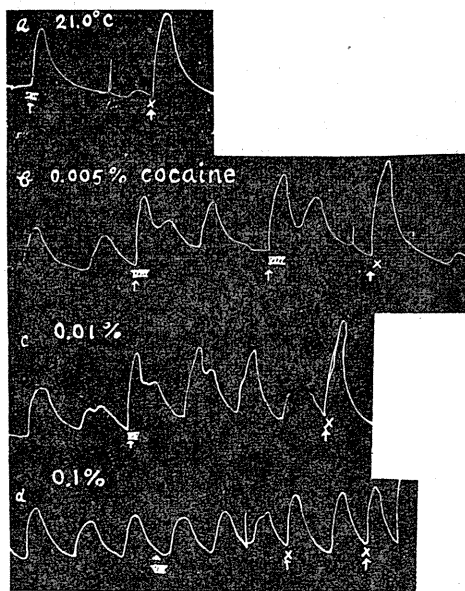
第Ⅹ前根刺激の效果は多くの場合影響を受けない。1例に於いて0.01%溶液にて収縮高の増大を見たが、更に濃度を増しても、それ以上の収縮高の増大を認めなかった。0.2~0.5%に於いては自収縮の増大著しく、Ⅷ、Ⅹともに神経刺激の效果は減少する傾向を示す。

Ephedrine の作用を総括して第1表に示す。

第1表 Ephedrine の作用

Ephedrine Ringer 溶液濃度	自収縮	第Ⅷ前根	第Ⅹ前根
0.005~0.01%	やや増強	やや増大反復性	殆んど不変(或はやや増大)
0.1%	増強	著明に増大反復性	同上
0.2%	更に増強	更に増大	同上
0.5%	同上	やや減弱	やや減弱

B. Cocaine の作用 (第2図)



第2図

a. 対照。矢印にて第Ⅷ前根(5"持続)或いは第Ⅹ前根(1"持続)に反復性感応電撃を与える。b. 0.005% Cocaine 溶液作用後9min. c. 0.01% Cocaine 溶液作用後14min. d. 0.1% Cocaine 溶液作用後14min.

第2表 Cocaine の作用

Cocaine Ringer 溶液濃度	自収縮	第Ⅷ前根	第Ⅹ前根
0.005%	増強規則的	やや増大反復性	不変
0.01%	更に増大	更に増大反復性	同上
0.1%	更に増大頻度増加	消失	やや減弱

0.005%乃至0.1%溶液の作用を検した。0.005%溶液作用後数分で自収縮強くなる。濃度を増すに従い益々強くなるが、Ephedrine の場合と異り、収縮は同期的であって、規則正しく大なる収縮が週期的に起る。

第Ⅷ前根刺激の效果は0.005%乃至0.01%にて既に増大、下降脚の延長、或いは重搏性となり、反復性収縮の傾向を示す。0.1%では刺激無効となる。

第Ⅹ前根刺激効果は0.005%乃至0.01% Cocaine によりやや増大するか或いは不変であり、0.1%作用時、第Ⅷ前根刺激が無効となった後も、小ではあるが、なお収縮を起す。

Ringer にて膀胱面を洗滌すると、Cocaine の麻痺作用は消失、第Ⅷ前根も再び刺激効果を現わす。Cocaine 作用を第2表に概括して示す。

IV. 考 察

Cocaine がネコの瞬膜或いは立毛筋に対する交感神経刺激の効果を増強する作用を持つことは Rosenblueth and Schlossberg⁵⁾, Bacq and Frédéricic¹⁾, Rosenblueth and Del Pozo⁶⁾ 等によって報告されている。

Cocaine のこの作用は Sympathin を分解する amine oxydase の作用を抑制するによるといわれている(Rosenblueth⁷⁾)。また Ephedrine にも amine oxydase を抑制する作用あることが Blaschko, Richter and Schlossmann²⁾, Blaschko³⁾ によって報告されている。比較的低濃度に於いて Cocaine 及び Ephedrine が第Ⅷ前根刺激の効果を増強することは、第Ⅷ前根に含まれる膀胱の運動性支配神経線維が交感神経性なることを物語っている。この収縮増強作用が筋自身の収縮性に対する影響に基くものでない

ことは、第Ⅹ前根刺激の效果に何等の変化を認め得ない場合にも第Ⅷ前根刺激の效果は判然としていることから知り得る。

Ephedrine の高濃度の場合には、自収縮が盛んとなり、不規則な収縮を繰返して、神経刺激の效果は宛も自収縮に陰蔽される如く弱化する。その弱化の程度は第Ⅷ前根刺激に於いても第Ⅹ前根刺激に於いても同様であり、筋自体の収縮性の減弱を思わせる。之に反して高濃度の Cocaine の作用時には自収縮は強大であり規則正しく、まさに膀胱の一葉全体が1個の pace-maker の支配下にあるが如くに見える。かかる際に第Ⅷ前根刺激は全く効果を失い、しかも第Ⅹ前根刺激が弱小ながらも尚決定的な効果を保持することは、両神経衝撃の作用機構に明らかな差異あることを暗示している点で甚だ興味深い。

V. 摘 要

1. ヒキガエルの膀胱を懸垂しつつその収縮を描記し、膀胱に Ephedrine (0.005~0.5%) 及び Cocaine (0.005~0.1%) を作用せしめた際の自収縮、第Ⅷ前根、第Ⅹ前根の刺激効果を検した。
2. 両種薬品ともに自収縮を増強する。
3. 両種薬品ともに低濃度に於いて第Ⅷ前根の刺激効果を増強するが、第Ⅹ前根の刺激効果

に対しては影響少く且つ不定である。高濃度 Cocaine 溶液は第Ⅷ前根の刺激効果のみを選択的に無効ならしめる。

4. 以上の結果は第Ⅷ前根に含まれる膀胱の運動性支配神経が交感神経性なることを示している。

文 献

- 1) Bacq, Z. M., and H. Frédericq (1935) Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. XI. Essai d'identification du médiateur chimique libéré dans la membrane nictitante du chat par l'excitation sympathique. Arch. Internat. Physiol. 40, 297-310
- 2) Blaschko, H., D. Richter and H. Schlossmann (1937) J. Physiol. 90, 1
- 3) Blaschko, H. (1938) Amine oxidase and ephedrine. J. Physiol. 93, 7-8
- 4) 千葉康則・高木孝敬・松田昇房 (1954) 膀胱の運動性支配神経について 日本生理誌 16, 429-430
- 5) Rosenblueth, A., and T. Schlossberg (1931) The sensitization of vascular responses to "sympathin" by cocaine and the quantitation of "sympathin" in terms of adrenalin. Am. J. Physiol. 97, 365-374
- 6) Rosenblueth, A., and E. C. Del Pozo (1942) The electric responses of the tail pilomotor and nictitating membrane of the cat. Am. J. Physiol., 137, 263-270
- 7) Rosenblueth, A., (1950) The transmission of nerve impulses at neuroeffector junctions and peripheral synapses. New York
- 8) 高木孝敬 (1957) ヒキガエルの膀胱の運動性神経支配機構について 日本生理誌 19, 57

Summary

The effects of Ephedrine (0.005~0.5%) and cocaine (0.005~0.1%) on the contractility of toad's bladder were studied. The drugs dissolved in Ringer fluid were applied directly to the bladder suspended *in situ*, while contractions were evoked by 8th and 10th ventral root stimulation. Both drugs were effective in augmenting auto-rhythmic contractions. The contraction evoked by the stimulation of 8th ventral root was intensified under the influence of either drugs in lower concentrations, whereas little or no influence was noticed on the contraction evoked by 10th root stimulation. Cocaine in higher concentrations made selectively the effect of 8th root stimulation invalid.

These findings suggest that the motor fibers in 8th ventral root which innervate the bladder are sympathetic.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto Univ.)

Lipo-protein Association 就 中, レ シ チ ン と

卵アルブミンとの相互作用 612.398.131:612.397.8

Lipo-protein Association, such as the Interaction
between Lecithin and Ovalbumin

(本論文の要旨は昭和29年, 第31回日本生理学会総会に於いて報告した)

井 上 康 夫 (INOUE-Yasuo)*

I. 緒 論

生体構成物質の示す複雑な物理化学的状态は主として, その分子間引力により維持されている. かかる力は生物系の物理化学的特性にとり非常に重要であり, この力の強さや性質が生物学的特性を規定しているのかも知れない. 笹川及びその協同研究者等は「生体の基本的構成単位として蛋白, 核酸及びリポイドが水を結合した高分子多分散系を想定して, これをば生活力を示すべき最小単位とし, かかる unit system から総ての生体系が構成せられ, その物理化学的変遷過程が生機の一諸相として捉えられるのであろう」と云う命題を数次にわたって報告して来ている¹⁾²⁾. この様な複合体の存在の可能性は笹川研究室を始め内外の電子顕微鏡的生体検索並びに cell fractionation による研究等により漸次明らかにされつつあり, 現在かかる超顕微鏡的顆粒構造—笹川により生活基本小体と名付けられた一の主体が liponucleoprotein system であることの証明が試みられつつある. この様な細胞よりも低次の unit system から細胞が成立するという考えは Virchow の細胞病理学説の根幹が動揺して以来既に古く, 多くの報告があり (Bungenberg³⁾⁴⁾, Lepeshinskaja⁵⁾ 及び Oparin⁶⁾ 等), これが幾多の顆粒学説的命題として発展し, 最近 Claude⁷⁾ 及び Brachet⁸⁾ も多くの形態的, 組織化学的研究の結果から“細胞内の超顕微鏡的顆粒が主体の基本的な単位である”と云う仮説の領域を示唆している. この様な細胞内顆粒の大きさや形態乃至その性質は

Pfӳger 学派が生理学原論領域に於いて提唱した Molekular Bau der Erregung でも明示していないが, 最も小さい生活単位として知られている Virus の最小な認識に非常に似かよっている⁹⁾. このことは笹川も屢々其の生活基本小体論に於いて主張し, タバコモザイクウィールスは斯る基本単位形の一列に配列した個体でなければならぬと言及している.

之等細胞顆粒は主として蛋白, 核酸及び lipid を主体として出来て居る⁷⁾¹⁰⁾ので電顕的認識を支えるのは斯る複合体だと考えられる. この様に生きた細胞の中では蛋白は屢々リポイド或いは核酸と結合して細胞の認識的構造単位的基础を作っていることが窺えるのであるが, 之等の物質は生機学的に観て恐らく非常に複雑な, そして異った three-dimensional system を形成して結合しているだろう. 我々は屢々かかる蛋白と脂肪或いは蛋白と核酸等との結合に遭遇するが, 之等構成要素の結合模様の詳細は今尚全く不明である.

近時 lipoprotein, nucleoprotein の如き複合蛋白の問題が生物学に於ける新しい重要性を獲得し, 種々の方法により検索され^{11)~14)}それ等の研究結果から蛋白の示す重要な生物学的特性が漸次知られ出して来た. しかしその多くの特性は蛋白と他のコロイド電解質との結合によることが明らかにされて来ている. しかし乍ら, 核酸, ionic lipid, 或いは自然に会合を起すような高荷電物質の如き生物学的に重要な polymer と蛋白との interaction の研究は比較的少い. しかし斯る点が生活基本小体論の中その演繹的命題の核心をなすと云ってよい処であ

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

って、著者はかかる見地から生活基本小体の支柱をなす liponucleoprotein system がどのように構成されるかについての理解像を得ようとして、先ず構成環の1つである蛋白、脂質間の結合模様を電気泳動的に確め、更に lipoprotein association に及ぼす solvent effect を調べたので之等の結果を総括して報告する。

II. 実験方法

供試資料は特に武田製薬研究室で4回再結晶を繰返して得られた結晶卵アルブミン及び純レシチン (Givaudan, Lavirotte & Cie-Lyon) を用いたが lecithin は尙僅か混入していると思われる cholesterol, neutral fat 等を除くため ether に溶解せしめ acetone で沈澱せしめる操作を数回行い、更に水で emulsion を作り出来るだけ少量の acetone で之を溶し、水溶性不純物を除いた。得られたものは水では僅かながら不透明であるが、磷酸緩衝液 pH 7.0 では透明であった。電気泳動分析には Green の方法¹⁵⁾で調整した phosphate buffer を用いたが、資料は 4°C で1昼夜透析した。卵アルブミンとレシチンの相互作用の予備実験¹⁶⁾で lecithin の等電点の酸性側に於いては難溶であり、又 pH 6.5 では之等混液は非常に混濁することがわかったので泳動実験は総て pH 7.0 或いはそれ以上の領域で行った。電気泳動は総て日立製 Diagonal type 電気泳動装置を用い 5°C で実験を行った。

III. 実験成績

卵アルブミンは容易に再結晶することが出来、永い間斉一な純物質と考えられたが、電気泳動的に分離することの出来る2つ或いはそれ以上の混合物である事がわかった^{17)~22)}。著者が用いた資料は pH 5.5~7.7 の範囲ではほぼ単一の boundary を示し、更に泳動を続けると2群の peak が認められたが、lecithin の場合には終始単一の sharp boundary を示した (Fig. 1. A, B.)。強塩基性 cholin を含む lecithin は pH 6.7 であり²³⁾²⁴⁾、卵アルブミンは pH 4.7 附近と報告されている²⁵⁾。それ故 pH 7.0 或いはそれ以

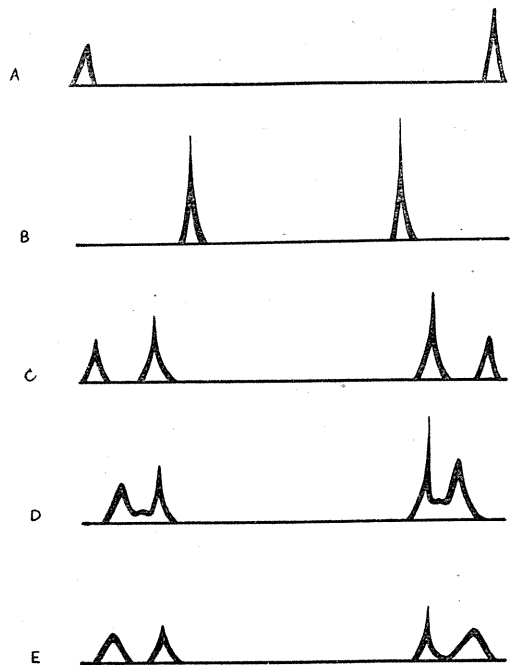


Fig. 1

A. 結晶卵アルブミン pH 7.7 $I/20.278$, B. 純レシチン pH 7.7 $I/20.278$, C. 卵アルブミン-レシチン混合液 (1:1) pH 7.7 $I/20.278$, D. 卵アルブミン-レシチン混合液 pH 7.0 $I/20.223$, E. 卵アルブミン-レシチン混合液 pH 7.0 $I/20.460$.

上の pH 領域では共に負に荷電されて陽極に移動する訳である。

1) pH の影響

lecithin 及び ovalbumin 混液の電気泳動図形に及ぼす pH の影響は pH 7.0, 7.7 で調べられた。この領域に於いては卵アルブミンもレシチンも pH に関係なく anodic mobility を持ち、各 component は single boundary を示した。また之等混液の pH 7.7 に於ける電気泳動図形は各々単独で得られた図形を重ね合せた結果に一致し、下行脚に認められる2群の peak は夫々 pure lecithin, pure ovalbumin と考えられる (Fig. 1. C)。しかし pH 7.0 に於ける図形では2つの予期した peak の外に明瞭な “intermediate peak” が認められる。このような結果は相互作用の性格が静電であることを示唆している。

2) Ionic strength の影響

lecithin, ovalbumin 混液の電気泳動図形に及

ばすイオン強度の影響は pH 7.0 で調べられ、燐酸緩衝液を用いて 0.084 から 0.460 まで変えられた。電気泳動図形に現われた著明な変化は Fig. 2 に示してある。即ち 0.084 から 0.223 の間の低イオン強度領域には lecithin 及び ovalbumin の複合体と考えられる “intermediate peak” が認められるが、(Fig. 1. D) 高いイオン強度の所ではこれが消失している (Fig. 1. E)。

3) lecithin : ovalbumin 比の影響

二物質混合液の泳動図形に及ぼす蛋白：レシチンの混合比の影響は pH 7.0, μ 0.223 で行われた。而して濃度比は 1/1, 1/3, 及び 5/1 と変化させられた。しかし乍ら 5/1 の場合は蛋白の完全な flocculation を起した為、泳動実験を行うことが出来なかったが、前 2 者の場合には各々著明な “intermediate peak” の形成が認められた。

IV. 考 按

蛋白の相互作用を研究するに当り、soluble complex の観察の為には電気泳動法は非常に有用な方法である。Mc Farlane は種々の lipid を用いて人工 lipo-protein を調整しようと試みたが emulsion が透明でなかったか、或いは例えばレシチンを用いた場合の如く透明であっても電気泳動的に complex の形成を認めることが出来なかった²⁶⁾。しかし乍ら電場に於ける複合体の形成は確かにその medium の pH, イオン強度、及び lipid/protein 比に影響される。これは著者の研究でも明らかであり、これに似た結果は detergent と蛋白間の反応でも認められている²⁷⁾。即ち Lundgren, Elam 及び O'Connell は alkylbenzene sulfonate と結晶卵アルブミンとの混液を用い等電点のアルカリ側でも complex の形成されることを実証したが、この complex は蛋白及び detergent のほぼ中間の mobility を持ち N 分析から卵アルブミン過剰の領域では detergent は蛋白の 1/3 (重量比) なることが確認された²⁸⁾。而して之等、化学量論的結合は native protein の割合が高いところでのみ起り、detergent 過剰の領域では蛋白の変性が起り、

detergent の多量が結合することが明らかにされた²⁷⁾。又 Pankhurst, Smith は蛋白分子に結合する sulfonic acid 分子の数は、蛋白に於ける陽荷電群の数に比し非常に多く、固定される detergent 量は酸結合能のほぼ 10 倍であることを示した²⁹⁾。Neurath 及び Putnam は之は恐らく蛋白分子が之等 detergent の 10~20 分子からなる micell と結合するためであろうと述べているが³⁰⁾、Karush 等は蛋白及び detergent がその塩様結合によると同様にその paraffin 長鎖と蛋白の非親水性基間に作用する分散力で結合するためと考えている³¹⁾。

Dervichian はかかる蛋白と他のコロイド電解質間の結合に関する多くの研究成果を詳細に検討して、natural lipoprotein と synthetic lipoprotein との類似性を指摘し、さらに lipid micelle と蛋白粒子間の interaction が pure ionic なることを結論した³²⁾。しかし乍ら蛋白には又多くの nonpolar group があり (eg. leucine, isoleucine, valine, phenylalanine etc.), 之等非極性基と nonpolar hydrocarbon group 間の分散力が問題となる可能性も非常に多い。

Luck は acetate から caprylate までの anion と血清アルブミンとの結合に於いて之等結合力が C 原子の附加で著しく増加することを示し、更にこの結合は micelle 形成に必要な濃度よりも、はるかに低濃度で強く起った点から脂肪酸 anion と蛋白との結合は pH 7.5~8.0 に於いては陽荷電の guanidine 基及び lysine 残基による静電力と脂肪酸 anion の側鎖と蛋白の非極性基間の Van der Waal's force によるとしている³³⁾。所が Dervichian は、もし detergent の paraffin chain が直接蛋白との結合を強めるのに貢献するならば、或いは chain length になった時、結合 energy が突然上昇することを理解することが出来ないから、かかる lipid micell と蛋白分子との結合は明らかに之等表面の静電力によるとした³²⁾。勿論イオン eg. alkyl sulfate の如きものでは蛋白の陽電基に sulfate 基についていようが、しかし一方 alkyl 側鎖は蛋白の 2, 3 の隣接非極性側鎖に近くある点から之等分散力を

全然否定する訳にはゆかず, 又 dye^{34)~36)}, 脂肪酸 anion^{33,37,38)}との interaction に於ける血清アルブミンと γ -グロブリン間の相違を見ても之等の反応が単なる静電的機構で説明出来るとも思われない。

著者の実験成績では interaction の性格が一見静電的である様に見えるが, 非極性基間の結合を否定する根拠はなく, 又 lipid の side chain group と albumin 分子中の carboxyl, hydroxyl 及び imino 基間の hydrogen bond の contribution についても確かなことがわかっていない以上, 之等二次的な結合の可能性を否定するわけには行かぬと思う。

V. 結 論

結晶卵アルブミンと純レシチン混液の電気泳動分析の結果から次の事が結論される。

1. lecithin-ovalbumin mixture は interisoelectric region のアルカリ側で soluble complex を形成する。

2. かかる complex の形成は phosphate buffer pH 7.0, μ 0.223 以下の条件で起り, ほぼ ovalbumin と lecithin との中間の mobility を示す。

3. complex 形成に及ぼす solvent effect を調べるため pH を 7.7 にあげたり, ionic strength を 0.460 に増加すると complex は消失する。

4. lecithin : ovalbumin 比が著しく高くなると insoluble complex の形成を来す (reversible) が 3:1 或いは 2:1 の条件では soluble complex が認められる。

5. かかる電気泳動的挙動からみれば interaction は静電的性格を示すが, 二次的な結合を否定する根拠はない。

欄筆に当り終始御懇切なる御指導, 御校閲を賜った恩師笹川久吾教授, 貴重な試料を御恵与下さった武田薬品研究部, 中島実氏に深謝します。

文 献

1) Sasagawa, K., H. Hosomi (1949) Acta Scholae Med. Univ. Kyoto, Jap. 27, 96

2) Sasagawa, K., et al. (1950) 第27回日本生理学会総会口演要旨 (1951) 第28回日本生理学会総会口演要旨 (1952) 第29回日本生理学会総会口演要旨 (1953) 第30回日本生理学会総会口演要旨
3) Bungenberg de Jong, H. G. (1932) Protoplasma, 15, 110
4) Bungenberg de Jong, H. G. (1949) In Colloid Science, II. (edited by Kruyt, H. R.), 232, 335, 433.
5) Lepeschinskaja, O. B. (1936) Cytologia, 7, 54 (1937) ibid. 8, 15
6) Oparin, A. (1937) Origin of the life.
7) Claude, A. (1949) Advances in Protein Chem. 5, 423
8) Brachet, J., H. Chantrenne (1942) Acta biol. Belg. 4, 451
9) Sonneborn, T. (1948) Am. Naturalist, 82, 26
10) Jeener, R. (1948) Biochim. Biophys. Acta, 2, 633
11) Chargaff, E. (1944) Advances in Protein Chem. 1, 1
12) Discussion on Lipo-proteins (1950) Discuss. Faraday Soc., No. 6.
13) Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry (1951) (Editors J. A. V. Entler and J. T. Randall) Vol. 2, 51
14) The Proteins (1953) (Edited by H. Neurath, K. Bailey), Vol. 2. Academic Press Inc.
15) Green, A. A. (1933) J. Am. chem. Soc., 55, 2331
16) Inoue, Y., H. Yamane (in press)
17) Longworth, L. G. (1939) J. Am. chem. Soc. 61, 529
18) Tiselius, A., B. Eriksen-Quensel (1939) Biochem. J. 33, 1752
19) Longworth, L. G., R. K. Cannan, D. A. Mac Innes (1940) J. Am. chem. Soc. 62, 2580
20) Anderson, E. A., R. A. Alberty (1948) J. Phys. Colloid Chem., 52, 345
21) Forsythe, R. H., J. F. Foster (1950) J. Biol. Chem. 184, 377
22) Cann, J. R. (1949) J. Am. chem. Soc. 71, 907
23) Chain, E., I. Kemp (1934) Biochem. J., 28, 2052
24) Bull, H. B., V. L. Frampton (1936) J. Am. chem. Soc. 58, 594
25) Smith, E. R. B. (1935) J. Biol. Chem. 108, 187 (1936) ibid. 113, 473
26) McFarlane, A. S. (1949) Discuss. Farad. Soc. 6, 17, 74
27) Putnam, F. W. (1948) Advances in Protein Chemistry 9, 83
28) Lundgren, H. P., D. W. Elam, R. A. O'Connell (1943) J. Biol. Chem. 149, 183
29) Pankhurst, K., R. Smith (1944) Transact Farad. Soc. 40, 565
30) Neurath, H., F. Putnam (1945) J. Biol. Chem. 160, 397
31) Karush, F., M. Sonenburg (1949) J. Am. chem. Soc. 71, 1369
32) Dervichian, D. G. (1949) Discuss. Farad. Soc. 6, 1

- 33) Luck, J. M. (1949) *ibid.* 6, 44
34) Klotz, I. M. (1947) *Chem. Rev.* 41, 373
35) Klotz, I. M. (1949) *J. Phys. Colloid. Chem.* 53, 100
36) Klotz, I. M. (1949) *J. Am. chem. Soc.* 71, 1597
37) Boyer, P. D., J. M. Luck (1947) *J. Biol. Chem.* 167, 40
38) Cogin, C. E., B. D. Davis (1951) *J. Am. chem. Soc.* 73, 3135

Summary

The interaction between crystalline ovalbumin and purified lecithin was investigated by electrophoretically. Particularly the effect of solvent on the lipoprotein association was investigated. The formation of reversibly dissociable lipoprotein complexes was detected under certain conditions where both components are negatively charged. These interaction was investigated in the phosphate buffer at pH 7.0 and $I/2$ below 0.223, and the complex exhibited welldefined boundary with intermediate mobility. However at higher pH or ionic strength, the ovalbumin and the lecithin migrated independently, and qualitative agreement of electrophoretic patterns with the composition of the sample was obtained. If the lecithin/ovalbumin weight ratio might be higher as 5/1, complete flocculation was observed, but at an optimal region (eg. 1/1, 1/3) precipitation was not occur and the intermediate peak was detected electrophoretically.

(Present Address. Dept. of Physiol. Osaka Med. School)

Lipo-protein Association の熱力学的考察 612.398.31:612.397.8

Thermodynamic Consideration on Lipoprotein Association

(本論文の要旨は昭和29年, 第31回日本生理学会総会に於いて報告した)

井 上 康 夫 (INOUE-Yasuo)*

I. 緒 論

水溶液中に於ける高分子と低分子イオン間の反応や高分子イオンコロイド相互間の結合の問題は, 生体を物性論的研究対象として眺める場合の如く機械論的の立場からも, また新気学説の立場から観ても必要な最も基本的な問題である. 高分子物質と低分子イオン間の反応については物理化学的測定方法のめざましい発展に伴い種々の方法で研究せられ, 最近之等反応の溶液論的解析並に熱力学的考察が試みられつつある^{1)~6)}が, 脂質, 蛋白質間の結合についての研究は比較的少い様である.

著者は笹川⁷⁾の生活基本小体⁷⁾の構成機構を追求するため, 先ず蛋白, 脂質間の結合の模様を電気泳動的に追求し, lipoprotein association に及ぼす solvent effect につき実験を行い, さきに, low ionic strength の下では等電点間領域の basic side に於いても ovalbumin-*lecithin* complex の形成されることを確めこれを報告した⁸⁾. かかる相互の net charge が同じである pH 領域でも両者間に interaction が認められ “soluble complex” が形成されると言う現象は detergent と蛋白⁹⁾ 或いは核酸と蛋白^{10)~14)}間でも認められている. この様な等電点間外領域の相互作用の研究は大部分が電気泳動法によっているが, 其の他表面張力, pH, 粘度, 光散乱等の測定, 或いは透析膜平衡法が応用出来る.

Klotz は透析膜平衡法を利用して色素と蛋白質間の反応を詳細に研究し,

$\text{Protein} + \text{Methyl orange} \rightleftharpoons \text{Protein-Methyl orange}$

と言う可逆反応に於ける自由エネルギーの変化

ΔF は 25°C に於いて色素 1Mol に対して -6.4kcal であり¹⁵⁾¹⁶⁾, ΔH は -2.1kcal である²⁾¹⁶⁾ ことを報告している ($\Delta S = +14 \text{ E. U.}$). 又 Karush は蛋白と detergent の反応に於いて octyl sulfate から dodecyl sulfate と C kette が増加すると ΔH の変化は左程でないのに ΔS が倍程変化することを示した¹⁷⁾. しかし乍ら脂質蛋白質間に於いてはかかる熱力学的観測が行われていない.

最近曾我美はこのような蛋白質とイオンとの反応を詳細に検討し, 一般に “water soluble protein と ion や detergent の反応では Gibbs free energy 変化の promoter は entropy term であり cellulose, wool 等の如き water insoluble substance と ion との反応は energy term の contribution が大きい” 事を推論している¹⁸⁾.

以上の如き結果をみると, 生活系に於ける高分子, 低分子相互間の反応に於いて enthalpy に比し entropy が甚しくきく場合の少ないことが考えさせられる. 然るに今まで生物系の反応に於いては一般に energy term のみに注目して研究が進められて来ている. 著者は生体内に於ける重要な複合蛋白系と考えられる lipoprotein 或いは nucleoprotein association につき熱力学的な考察を試みんとし, 先ず定性的に蛋白, 脂質間の等電点間外反応につき実験を行った.

II. 実験方法

1. 電気泳動

試料は前報⁸⁾と同様, 結晶卵アルブミン及び純レシチンを用い磷酸緩衝液 pH 7.0 $\mu 0.223$ で ovalbumin : *lecithin* 比 1 : 1 (蛋白濃度 0.5%) の混液を調整し water bath で 40°C 或いは 80°C 5 分間熱処理後室温に放冷, 用に供した.

電気泳動は総て日立製 Diagonal type 電気泳

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

動装置を用いて 5°C 附近で実験を行ったが、さらに covalent bond による結合を検するため濾紙電気泳動法を併用した。

2. 濁度実験

ovalbumin の熱凝固に対する lecithin の阻害作用を確かめるため、試料の溶媒条件を種々変化せしめ、熱による蛋白の濁度を光電比色計で測定し、lecithin 添加試料の結果と比較検討した。

Ⅲ. 実験成績

1. 電気泳動分析

lecithin-ovalbumin 1:1 混合試料が pH 7.0, ionic strength 0.223 の条件で soluble complex を形成し電気泳動的に Fig. 1. C の如き intermediate peak を示すことは既に報告したが⁸⁾, これと等条件の試料を 80°C, 5 分熱処理を加えた後、放冷して、泳動を行ったところ Fig. 1. D に示す如き特異的な易動度をもつ複合体の形成

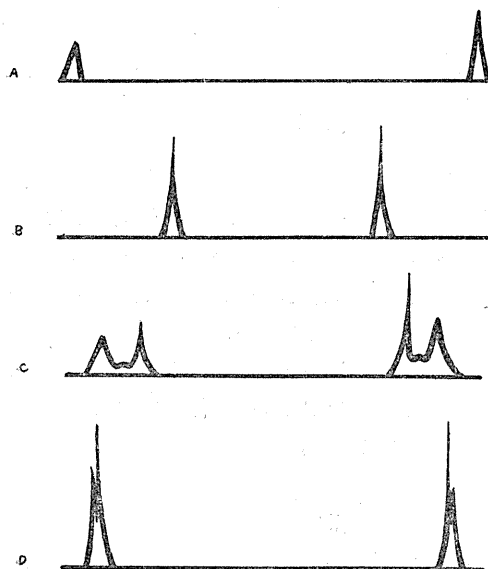


Fig. 1

A. 結晶卵アルブミン, B. 純レシチン, C. 卵アルブミン+純レシチン(1:1)混合液 pH 7.0, $I/2$ 0.223, D. 卵アルブミン+純レシチン 80°C, 5 分間熱処理試料。

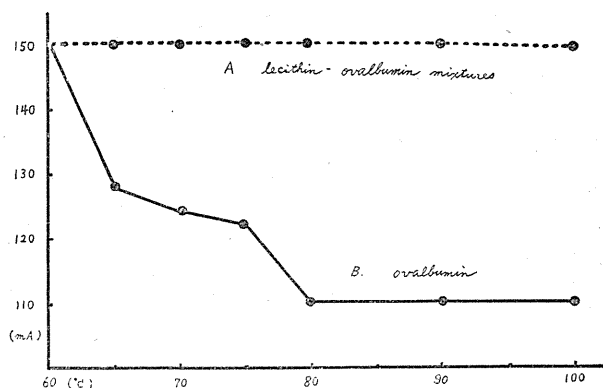


Fig. 2

が見られた。これは熱処理を加えなかった場合に比し、複合体の形成が特に著しく、且つかかる反応は irreversible であった。また濾紙電気泳動の結果も終始単一 peak を示した。しかし乍ら 40°C, 5 分熱処理試料は全然熱処理を行わなかった場合、即ち Fig. 1. C も差が認められなかった。前者の如く蛋白の熱凝固が lecithin の添加でおさえられ且つ、soluble complex を形成すると云う現象は非常に興味深いことであるが、かかる反応の成立条件を電気泳動的に規定するためには相当量の試料を要することになるのでこれを簡便化するため次に濁度実験を行った。

2. 濁度実験

磷酸緩衝液 pH 7.0, $I/2$ 0.223 の条件で 0.5% の蛋白濃度を有する ovalbumin-lecithin 1:1 混合試料と等条件の単純卵アルブミン試料を種々の温度で 5 分間処理後の濁度の測定結果は Fig. 2 に示す如く ovalbumin 単独では温度の上昇と共に濁度の増加を示すが、lecithin 添加試料ではこれに反し最初の値と少しも変らなかった。この様なことは ovalbumin:lecithin 比を変化させて 5:1 とした場合でも或いは塩濃度を 0 に近づけても明らかに認められた。かかる蛋白の熱凝固が、核酸或いは脂質添加により防がれることは生物組織に於いても認められる。例えば著者が白鼠肝の Mitochondria の可溶性蛋白の研究で、抽出に際し、凍結融解を繰返した試料と超音波抽出を行った試料とでは熱に対する挙動が全く異って居り前者は 80°C 5 分で完全に

flocculate するのに後者は終始透明であった。

IV. 考 按

一価脂肪属イオン eg. butylate, caproate 或いは caprylate は蛋白と結合して soluble compound を形成することが明らかにされたが¹⁹⁾、一方脂肪酸は加熱其の方法で変性される蛋白の凝固を阻害することが報告されている²⁰⁾。しかし乍ら卵アルブミンは pH を等電点からなるべく離して塩類のない状態で加熱すれば凝固は起さないが medium の pH を等電点に近づけると忽ち凝固を起す²¹⁾と云う点及び多くの蛋白が、たとえ肉眼的に凝固沈澱が見られない時にも変性による分子の重合が生じていることがある^{22), 23)}点を考慮すると熱凝固が認められないから変性が起っていないと云う訳にはゆかぬ。一般に卵アルブミンの安定性はその medium の物理化学的条件に左右されるが pH 4~9 の間では安定で monodisperse である²⁴⁾。然し等電点領域では aggregation を起し^{25), 26)}更にこの aggregation の割合は pH 4 から等電点を通り pH 6.0 に向って連続的に減少することが認められている²⁶⁾。Foster 等は卵アルブミン溶液の熱による aggregation を light scattering で測定し pH 2.4 及び 9~10 に於いては aggregation は最低で heating の時間と aggregation の割合は 5~60 分の間では変化がなかった事を示している²⁷⁾。著者は以上の諸点を考慮した上、蛋白の熱凝固に及ぼす lecithin の阻害作用を調べたが、かかる蛋白の熱凝固に対する安定性の獲得は thermal agitation による peptid 鎖の liberation が蛋白-脂質間の結合のため防がれていると考えられる。かかることは soap 及び detergent が種々の形の蛋白変性に対し安定性のあること²⁸⁾及び phospholipid が detergent の殺菌作用を阻害するのみならず sulfhydryl group の liberation により測定される如く卵アルブミンの変性を防ぐ点²⁹⁾からも想像される。しかし乍ら synthetic detergent は一般に高い蛋白変性能を持っており⁹⁾、また血清アルブミンと amines soap 間の場合にはかかる防禦作用のないことがわかってい

る³⁰⁾ので蛋白と anion 間の総てでかかることが起るわけではなからう。この様な蛋白の変性や凝固が或る種の物質を加えると阻止されることは早くから知られていた。熱による蛋白の凝固は多量の尿素、5~10%の蔗糖³¹⁾、Congo red³²⁾、核酸³³⁾或いは低級脂肪酸のナトリウム塩³⁴⁾の添加により妨げられる。而して之は球状蛋白粒子表面の極性基に之等物質の極性基が結合するためと考えられている³⁵⁾。著者の卵アルブミンの熱凝固が lecithin の少量の添加で完全に阻止せられる結果及びその電気泳動分析の結果から見ても、これらは明らかに Complex 形成による stabilizing と解せられる。一般に蛋白の熱凝固は peptide 鎖が熱運動により解かれ粒子表面に出されたイオン性基間に分子間の salt bridge が作られることにより起るとされているが、かかる一連の反応が僅かの lipid 添加で stabilize されることは非常に興味深い問題である。しかもかかる反応は電気泳動分析の結果から irreversible であり endothermic であるので一般に lecithin と蛋白との反応では entropy term の contribution が大きいのではないと思われるが、之等詳細については何れ精密な物理学的測定を行う予定である。

V. 結 論

1) 蛋白の熱凝固を阻害する lecithin の作用は特異的で、少量の lecithin の添加でも熱による flocculation が起らない。此の事は蛋白複合体が生体組成成分を構成してゆく上に注目すべき現象とせねばなるまい。

2) このような防禦作用は電気泳動分析の結果から蛋白、脂質間の複合体形成によるものであることが知られ、その反応は irreversible である。

3) しかも蛋白と lecithin の結合は熱力学的にみて明らかに吸熱反応であるので、その promoter は entropy term である。

4) 以上の諸点から生体構成に於いても entropy term の contribute する process が当然考えられる。

稿を終るに臨み恩師笹川久吾教授の御指導、御校閲ならびに種々御助言をいただいた曾我美勝学兄、貴重な資料を提供していただいた中島氏に深く感謝します。

文 献

- 1) Alberty, R. A. (1948) J. Am. chem. Soc. 70, 1675
- 2) Klotz, I. M., J. M. Urquhart (1949) J. Phys. Colloid Chem. 53, 100
- 3) Velick, S. F. (1949) *ibid.* 53, 135
- 4) Karush, F. (1950) J. Am. chem. Soc. 72, 2705
- 5) Baldwin, R. L. (1951) J. Phys. Colloid Chem. 55, 111
- 6) Steiner, R. F. (1953) Arch. Biochem. Biophys. 47, 56
- 7) Sasagawa, K. (1949) Acta Scholae Med. Univ. Kioto, Jap. 27, 96
- 8) Inoue, Y. (in press) (Acta Scholae Med. Univ. Kioto, Jap.)
- 9) Putnam, F. W. (1948) Advances in Protein Chemistry, 9, 83
- 10) Longworth, L. G., D. A. McInnes (1942) J. Gen. Physiol. 25, 507
- 11) Goldwasser, E., F. W. Putnam (1950) J. Phys. Colloid Chem. 54, 79
- 12) Szafarz, D. (1951) Biochim. Biophys. Acta 6, 562
- 13) Geiduschek, E. P., P. Doty (1952) *ibid.*, 9, 609
- 14) Yamane, H. (1955) J. Physiol. Soc. Jap., 17, 540, 544, 549, 555
- 15) Klotz, I. M., F. M. Walker (1947) J. Am. chem. Soc. 69, 1609
- 16) Klotz, I. M., J. M. Urquhart (1949) *ibid.* 71, 847
- 17) Karush, F., M. Sonenberg (1949) *ibid.* 71, 1369
- 18) Sogami, M.; personal communication.
- 19) Ballou, G. A., P. D. Boyer, J. M. Luck (1945) J. Biol. Chem., 159, 111
- 20) Rice, R. G. (1945) *ibid.* 158, 609
- 21) Robertson, T. B. (1918) The Physical Chemistry of the Proteins, 305
- 22) Haurowitz, F. (1950) The Chemistry and Biology of Protein, 125
- 23) McPherson, C. F. C., M. Heidelberger (1945) J. Am. chem. Soc. 67, 574
- 24) Sjögren, B., T. Svedberg (1930) *ibid.* 52, 5187
- 25) Bier, M., F. F. Nord (1949) Proc. Natl. Acad. Sci. 35, 17
- 26) Bier, M. (1950) Doctoral Dissertation, cit. Gibbs R. J., Arch. Biochem. Biophys. 40, 85 (1952).
- 27) Foster, J. F., R. C. RHees (1952) Arch. Biochem. Biophys. 40, 437
- 28) Luck, J. M. (1947) J. Phys. Colloid Chem. 51, 229
- 29) Miller, Z. B., H. M. Lemon, B. F. Miller (1942) Federation Proc., 1, 126
- 30) Luck, J. M. (1949) Discuss. Farad. Soc. 6, 44
- 31) Fischer, R. (1947) Experimentia 3, 29
- 32) Haurowitz, F., F. Di Moia, S. Tekman (1952) J. Am. chem. Soc. 74, 2265
- 33) Carter, C. E., J. P. Greenstein (1946) J. Nat. Cancer Inst. 6, 219
- 34) Boyer, P., F. Lum, G. Ballou, J. Luck, R. Rice (1946) J. Biol. Chem. 162, 181
- 35) Haurowitz, F. (1951) Progress in Biochemistry

Summary

The binding of purified lecithin and crystalline ovalbumin has been studied thermodynamically. In the investigation on the thermal stability of proteins, it was revealed that to prevent heat coagulation of the ovalbumin was sufficient adding a small quantity of lecithin solution to the ovalbumin solution.

The results of the electrophoretic analysis of these samples indicate that the soluble complex occur. Moreover the paperelectrophoretic analysis might suggest that such complex was formed by the covalent bonds.

These reactions were irreversible and endthermic. Namely $\Delta H > 0$, $\Delta S > 0$ and $|T\Delta S| > |\Delta H|$, where ΔH shows enthalpy and ΔS shows entropy.

The interaction of protein with nucleic acid is being investigated by the author from physico-chemical stand-point. And the theoretical and experimental details will be reported in the next paper.

(Present Address, Dept. of Physiol. Osaka Med. School)

白鼠血清 Lipoprotein 分割への P^{32} の Incorporation と Contaminating P^{32} の除去の問題 612.398.12:547.96

The Incorporation of Radioactive Phosphorus into the Lipoprotein Fraction of Rat Serum and Removal of the Contaminating P^{32}

(本論文の要旨は昭和29年、第10回日本生理学会近畿談話会に於いて報告した)

井 上 康 夫 (INOUE-Yasuo)*

1. 緒 論

蛋白及び脂質よりなる複合体“Lipoprotein”の生体系に於ける重要性が多数の学者により示唆されているが¹⁾²⁾、蛋白の示す重要な生物学的特性のうち多くのものが蛋白と他のコロイド電解質との会合に負っている事は過去の研究成果に徴してみても明らかである。蛋白それ自身としては「負のエントロピーを喰っている」³⁾とか「自率的の代謝能力のある」等々、それにはいかなる形容詞を与えても過去の生機学に於ける蛋白生命論が生物学的の障壁に突当たったのもわかる如く、恐らく生機成立の立役者にはなり難いであろうが、生活基本小体論の主張する如く、蛋白と他の高低諸分子の相関に生体生機成立の醍醐味を有するであろう。著者はそれで生体の基本的構成単位と考えられる複合蛋白系 Liponucleoprotein system 一笹川により生活基本小体と名付けられた⁴⁾⁵⁾の構成機構を追求する目的で先ずその構成環の1つであって生活基本小体論以前の生機学も重視したところの蛋白、脂質間の結合模様を電気泳動的に確め、さらに Lipoprotein Association に及ぼす Solvent Effect につき実験し、之等反応の熱力学的考察を試み之を報告した⁶⁾⁷⁾。

*3) によれば Bacteria の代謝に於いて Entropy を算出すると -90kcal/deg の負の Entropy になり Bacteria 1個当りになおすと、 $10^{-11}\text{kcal/deg. per cell}$, $-5 \times 10^{12}\text{kcal/deg. per "mole" of cells}$ になる。尚 Information Theory in Biology に於いて蛋白の Information Content を計算し、Information content が 7~8 bits で quantize されている事を、Antigen-Antibody Reaction, Enzyme Action より estimate している。

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

かかる複合体の構成機構に関し山根は核酸、蛋白間の相互作用を調べ⁸⁾、曾我美はその集合の理論を確立し⁹⁾、現在更にその詳細が追求せられつつある。一方機能面に関しては放射性同位元素を応用して行われた研究報告を初め 2, 3 の業績があり、細菌の菌体破壊とその増殖能の問題、組織培養等による研究が取上げられた。Liponucleoprotein 高分子複合体と低分子(水)との相関に就いての生物学的乃至物性論的一連の研究が展開され其の生機発現の基本単位としての検証が進められているが、今後の研究にまつ所が多い。

そこで著者は複合蛋白系の1つとして血清リポプロテインをとりあげ、この分割中への P^{32} の Incorporation につき実験を行うと共に P^{32} の汚きを調べる際に必ず問題となる所の高分子系に対する Contaminating P^{32} の除去の問題につき研究を行った。

Contamination の問題については既に Davidson 等研究^{10)~13)}を始め、1, 2 の報告が見られるが、Davidson 等は核酸分割への P^{32} の Turnover rate の研究中その分離抽出時の溶媒条件により、得られた結果にかなりの差のあることを認めこれが Contamination に起因するものであることを明らかにし、更にその後の詳細な研究から真の Incorporation を観察するためには必ず Contaminating P^{32} の除去を考慮しなければならぬことを強調している。

かかる点に関して本邦でも高浪、田代、山根等は溶液論的な立場から P^{32} の Contamination について研究しているが、それにつけても痛感されるのに簡便な Contamination 除去方法の確

立である。そこで著者は先ずこの問題を解決するために Paperchromatography 及び濾紙電気泳動法を用いて実験を行った。

II. 実験方法

A. Contaminating P^{32} の除去

試料は新鮮な人血清, 2% DNA, RNA および純レシチンに一定量の P^{32} を添加し, その約 $10\mu\text{L}$ を使用した。この様な高分子物に P^{32} の混液を Paperchromatography を利用して分離しようとする場合, Paper に対する P^{32} の吸着を考慮に入れると展開剤としては, なるべく P^{32} を原点に止め高分子系のみ分離をはかる必要がある。そこで適当な展開剤を選ぶため各種の溶媒を用いて予備実験を行ったところ, 核酸及び蛋白では Phenol が, レシチンの場合は Ethanol 水混合液が適することがわかった。先ず通常用いられている一次元上昇法により展開乾燥後 Paper 上に於ける P^{32} の分布を Geiger Müller counter で計測し, 之を記録した後に試料の発色を行った。蛋白の発色は Brom phenol blue を用いたが, 核酸は醋酸添加石炭酸フクシン液で数分染色後, 2% Acetic acid で数回洗滌する方法¹⁴⁾をとった。また, レシチンの場合は 0.5% 過マンガン酸カリ液による発色を行った。

濾紙電気泳動法による Contaminating P^{32} の除去は以上の場合とは逆に, 高分子物は出来るだけ原点に止め, P^{32} のみの排除をはかるのであるから専ら等電点近傍で実験を行った。装置は Durrum¹⁵⁾ 記載のものを用い, Acetate buffer pH 5.6 $I/2$ 0.05 で $1\text{mA}/\text{cm}$, 3~4 時間通電した。

B. Lipoprotein fraction への P^{32} の Incorporation

数匹の健常雄ラッテに P^{32} を毎日 $0.2\text{mc}/\text{kg}$ 宛連続腹

部皮下に注射し 5 日, 8 日, 12 日と尾端より約 0.1cc 宛ガラス毛细管に採血, 血清分離後その約 $10\mu\text{L}$ を用いて Papermygration を行った。この際少しでも溶血を起すと血球内の A. T. P. 或いは Kreatin Phosphate 分割に incorporate した P^{32} の混入を来し, あやまった結果を来す恐れがある¹⁶⁾ので採血には特に留意した。通電後の処理は概ね A と同様。

III. 実験成績

A. Contaminating P^{32} の除去

血清- P^{32} 混液を Paperchromatography により 80% Phenol を用いて展開すると Fig. 1. に示す如く蛋白が非常によく移動するに反し, P^{32} は殆んど原点に止まるため全く P^{32} を含まない蛋白部分のみが分離出来た。然し乍ら核酸 P^{32} 混液の場合は蛋白に比し相当量の核酸が原点に止まった上, 最近 Phenol により irreversible な化学変化を来すと言う報告* もあるので核酸の場合は濾紙電気泳動法によるのが適当と思われる。

DNA- P^{32} 混液を用い Acetate buffer pH 5.6, $I/2$ 0.05 の条件で $1\text{mA}/\text{cm}$ 3 時間通電した場合 Fig. 2. の如く大部分の P^{32} が除去出来た。

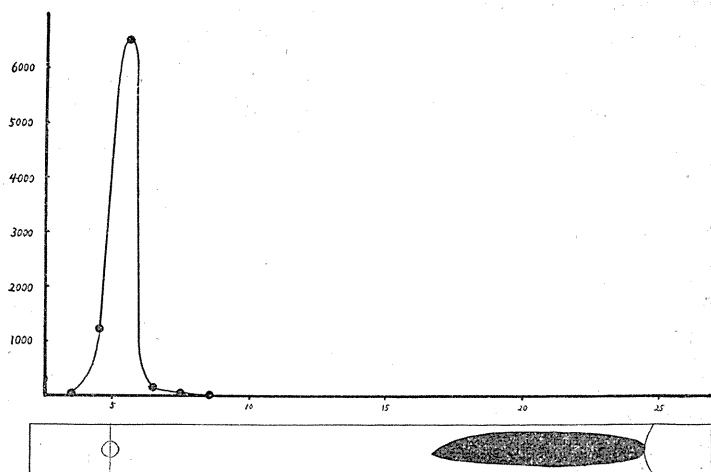


Fig. 1.

Paperchromatographic separation of inorganic radioactive phosphates which were added to human serum. Solvent, 80% phenol. Temp., 32°C .

* Conway, B. E., Butler, G. A. V., J. Chem. Soc., 30, 75 (1952)

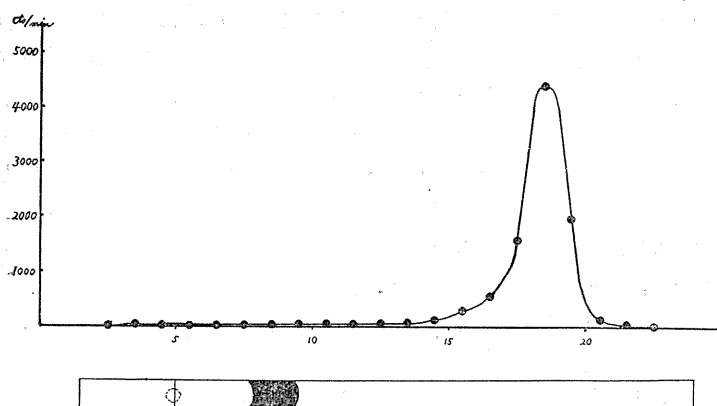


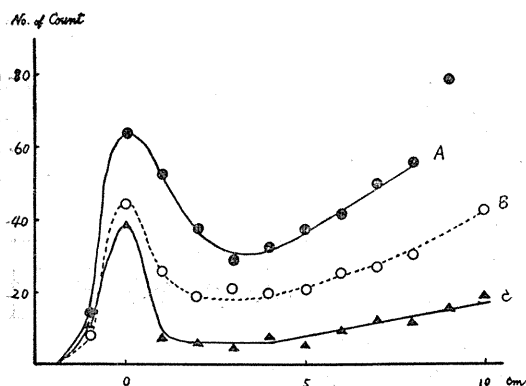
Fig. 2.

Paperelectrophoretic separation of inorganic radioactive phosphates which were added to D. N. A. solution. Acetate buffer pH 5.6. $I/2$ 0.05, 1mA/cm (2.5 hr).

かかる結果は RNA- P^{32} , Protein- P^{32} 或いは Lecithin- P^{32} 混液を用いた場合にも得られた。然し各分割部に尙数十 Count 前後の P^{32} が残っているが、之は泳動時間を延長するか或いは荷荷電圧を増加させると漸減の傾向を示すので実用には差支えなからう (Fig. 3 参照)。

B. Lipoprotein fraction への P^{32} の Incorporation

P^{32} を連続腹部皮下へ注射したラットの血清内 P^{32} の分布は、濾紙電気泳動分析の結果から

Fig. 3. Acetate Buffer pH 5.6 $I/2$ 0.05

A. 1mA/cm 2時間 (6831), B. 1mA/cm 3時間 (7420), C. 1mA/cm 4時間 (6996).

主として Albumin 及び β -Globulin 分割に多い事がわかった (Fig. 4)。これは血清内の脂質分布にほぼ一致した成績であり¹⁷⁾ 且つ、血清リポプロテインの α および β 分割部に相当するようにも見えるので Sudan III を用いて Lipoprotein の染色を試みたが発色度が悪く確定的なことがわからなかった。そこで通常リポイド抽出に用いられる Alcohol-Ether 3:1 混液で抽出後の

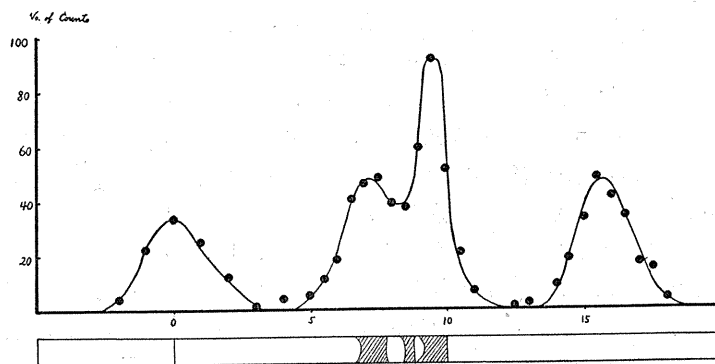


Fig. 4.

The incorporation of radioactive phosphorus into the lipo-protein fraction of rat serum (After 12 day). Acetate buffer, pH 5.6, $I/2$ 0.05, 4mA/5cm (3 hr).

Count の模様を調べたところ Organic P^{32} の大部分が溶出されることがわかった。このような血清分割への P^{32} の Incorporation は 8 日以後は日数の経過で大差なく、また 10 日間 P^{32} を 0.2mc/kg 連続注射後その 4 倍量を 3 日間注射した例でも著明な差が認められなかった。しかし一般に Count 数が非常に少いためその詳細は不明であった。

IV. 考 按

放射性同位元素 P^{32} が Tracer として用いられるようになって以来、細胞内の磷酸代謝に関する研究が盛んに行われ、特に近年細胞構成物質として重視されて来た核酸或いは各分野で注目されている ATP (アデノシン三磷酸) 等の磷酸

代謝について数多くの興味ある報告がなされて来ている。しかし乍ら細胞内要素への P^{32} の Incorporation の実験を行う際、分離抽出時の溶媒条件により P^{32} のかなりの汚染が起るので、かかる P^{32} の動きを調べる実験に於いては必ず分子系に対する P^{32} の Contamination を検討しなければ得た結果に対してあやまった判断を下す恐れがある。しかも之等 Contamination 量は実験条件によりかなりの差があるので、Contamination をさけると云う事のほかに、除去方法の確立が望まれるわけである。かかる点に関して Davidson 等は Schmidt-Thanhauser 法¹⁸⁾で分離した核酸分割への P^{32} の Contamination の問題を詳細に追求し、之が除去の目的には Ionophoresis が優れていることを報告した¹¹⁾¹²⁾、著者はこの様な核酸（及び核酸の誘導体）のみならず蛋白、脂質に於いても Contamination が起る事実に鑑み、Paperchromatography, Paperelectrophoresis を用いて Contaminating P^{32} の除去を企てたのである。その結果、之等が非常に有用な方法であることが確められたので、之を用いて血清 Lipo-protein 分割内への P^{32} の真の Incorporation を調べた。そして Radioactivity が Albumin 及び β -Globulin 分割に多いことを認めたが、之は Maurer 等の実験成績¹⁹⁾と良く一致しているのみならず、この分割の P^{32} が有機溶媒で抽出可能な点から見て Lipid 分割に incorporate した P^{32} であることがわかる。しかし乍ら一般に Count 数が少なかったため、日数の経過による Incorporation の様子を詳細に検討することが出来なかったが、之は Hevesy 等の成績²⁰⁾とほぼ似た結果を示しているので今後更に組織 Lipoprotein とも関連して研究を進めたく考えている。なお之に関して Entenman 等は Plasma Phospholipids が Liver Phospholipids により連続的におきかえられるに反し、他の組織の磷脂質は Plasma Phospholipid Exchange に直接関係がないと報告している²¹⁾。又 Popper は之等の脂質は Lipoprotein の形で Liver から他の組織へ輸送されると言い²²⁾ Bloom は磷脂質が脂肪酸の運搬に直接関与して

いるか如何かは疑わしいと述べている²³⁾。

V. 結 論

1. 核酸、蛋白、脂質等に contaminate した P^{32} の除去方法として Paperchromatography 及び Paperelectrophoresis が良好な結果を与える。
2. これらの方法は少量の資料についての Contaminating P^{32} の除去が簡便に行えるだけでなく各分割の真の Incorporation を知ることが出来る。
3. P^{32} を連続非経口授与したラッテ血清内 P^{32} の分布は主として Albumin 及び β -Globulin 分割に多くこれら分割の P^{32} は Alcohol-Ether 3:1 混液で溶出出来た点から Lipoprotein 分割へ incorporate しているものと思われる。

稿を終るに当って、御懇篤な御指導と御校閲を賜った恩師笹川久吾教授並びに色々と御助言下さった、曾我美勝学兄に深謝します。

文 献

- 1) Chargaff, E. (1944) *Advances in Protein Chemistry*, 1, 1
- 2) Discussion on Lipo-proteins (1950) *Discuss. Farad. Soc.* No. 6
- 3) Linschitz, H., *Cit. Information Theory in Biology*, Edited by Henry Quastler, p. 251, University of Illinois Press. (1953)
- 4) Sasagawa, K., T. Hosomi (1949) *Acta Scholae Med. Univ. Kioto, Jap.* 27, 96
- 5) 笹川久吾・外 (1950) 第27回日本生理学会総会口演要旨 (1951) 第28回日本生理学会総会口演要旨 (1952) 第29回日本生理学会総会口演要旨 (1953) 第30回日本生理学会総会口演要旨
- 6) Inoue, Y. (in press) (*Acta Scholae Med. Univ. Kioto, Jap.*)
- 7) Inoue, Y. (in press) (*ibid.*)
- 8) Yamane, H. (1955) *J. Physiol. Soc. Jap.* 17, 549, 555
- 9) Sogami, M. (1953) *ibid.* 15, 13
- 10) Smellie, R. M. S., J. N. Davidson (1951) *Biochem. J.* 49, 15
- 11) Davidson, J. N., S. C. Frazer, W. C. Hutchison (1951) *ibid.* 49, 311
- 12) Davidson, J. N., R. M. S. Smellie (1952) *ibid.* 52, 594
- 13) Davidson, J. N., R. M. S. Smellie (1952) *ibid.* 52, 599
- 14) 井上康夫・曾我美 勝・田代 裕; (印刷中) (日本生化学会雑誌)
- 15) Durrum, E. L. (1950) *J. Am. chem. Soc.* 72, 2943
- 16) Schild, K. T., W. Maurer (1952) *Biochem. Z.* 323, 235

- | | |
|--|--|
| 17) Lever, W. F., et al. (1951) J. clin. Invest. 30, 99 | York-London. |
| 18) Schmidt, C., S. J. Thannhauser (1945) J. Biol. Chem. 161, 83 | 21) Entenman, C., I. L. Chaikoff, D. B. Zilversmit (1946) J. Biol. Chem. 166, 15 |
| 19) Maurer, W., K. T. Schild (1951) Klin. Wschr. 514 | 22) Popper, H. (1954) Arch. Int. Med. 94, 785 |
| 20) Hevesy, G. (1948) Radioactive Indicators, New | 23) Bloom, B. (1951) J. Biol. Chem. 189, 261 |

Summary

The problem of contamination was examined through binding of macromolecules and inorganic phosphorus ions. And it was found that paperchromatography and paperelectrophoresis were convenient methods to know true specific activity of the fractions, as the removal of contaminating P^{32} might be done simply by using these methods. Under the consideration of these contaminations, the distribution of P^{32} in serum fraction of rat was investigated. And it was established that the organic P^{32} incorporated into albumin and β -globulin fraction mostly. And, P^{32} of these fractions were extracted by alcohol : ether 3 : 1 mixture, so that this P^{32} might be incorporated into lipoprotein fractions.

(Present Address. Dept. of Physiol., Osaka Med. School)

骨 格 筋 の ア セ チ ル コ リ ン 痙 攣 に 対 す る

NH₄ イ オ ン の 作 用 612.741.15

Effects of NH₄ ion on Acetylcholine contracture of Skeletal muscle.

高 木 喬 (TAKAGI-Takashi)*

I. 緒 言

骨格筋の興奮に対し Na⁺ が必要なことは既に古く Overton¹⁾により見出されているが、近年になって Hodgkin 等²⁾の詳細な研究によりそれが確認せられ、今日では神経或いは筋の活動電位の発生に対し外液中に Na⁺ の存在が必要な事はよく知られている。所が一方、筋の終板のアセチルコリン (以下 ACh と略記) による脱分極に関しては事態はそれ程明確とは云い難い様である。勿論、Na⁺ の必要性については種々の研究²⁾¹⁰⁾が行われている。即ち、それらの研究に於いては Na⁺ の代用として蔗糖が用いられており、Na⁺ を含まない所謂蔗糖 Ringer 液に浸漬した筋に於いては ACh 適用による筋の短縮が全くおこらないことは容易に確認せられたが、その際終板の脱分極に関しては蔗糖 Ringer 液の電気伝導性の不良な事等に妨げられ明確な結論が得られず、漸く最近になって終板の脱分極も蔗糖 Ringer 液に浸漬した筋でおこらない事が明かにされた。著者等は Na⁺ を置換するのに蔗糖だけでなく、他のありふれた一価或は二価の陽イオンを用いて行えばどうかと考へて実験を行い、NH₄⁺ が終板の脱分極に関しては Na⁺ の代用となる事を見出して先に報告したのであるが、其後更に詳細に実験を進め、NH₄⁺ が単に Na⁺ の代用をする以上に非常に反応を増強する作用がある事を見出した。また此の実験を進める内、比較的少量を Ringer 液に添加する場合に於いては、著しく筋線維の興奮性を高められる結果を得た。このような NH₄⁺ の作用は今まで全く知られなかったもので、種々の点で興味があると思われるので

ここに報告する。

II. 実 験 方 法

実験材料は主として蟾 (Bufo vulgaris formosus) の縫工筋を用いた。又、実験によってはこれと比較する目的で、直腹筋も使用した。何れの場合も、一部の実験を除いては左右の筋の中一方を被検筋に、他方を対照筋として使用した。実験装置としては、万能支持台に Magnus 槽を取り付け、槽の底部に筋の一端を糸で結紮し、他端は糸で横杆に連絡した。この筋の浸っている液槽に ACh 溶液を滴下し、それに引続いておこる筋の等張性短縮をキモグラフィオン塗煤紙に描記してメカノグラムを得た。横杆は筋の微細な短縮運動をも描記し得る様に郷原式横杆を用いた。尚、Magnus 槽には筋に O₂ を補給すると同時に、注入した ACh 溶液を速かに混和する意味から空気を送っておいた。用いた ACh の濃度は通常最終濃度で 6.6×10^{-6} w/v 程度のものである。この実験に於いては別出した筋を種々の組成の等張液に浸漬し、しかる後にその筋の ACh に対する反応を検査したのであるが、その結果は常に対照実験の結果と比較する様にした。この場合の対照実験とは同じ動物の反対側同名筋を用いた実験を云う。筋を浸漬した液の量は 45cc であって、A 実験に於いては筋を Na⁺ を含まない液として蔗糖および NH₄ Ringer を使用したが、此の場合実験の目的上筋線維間に含まれる Na⁺ を出来るだけ完全に洗い出すことが必要であるので、まず筋を 2 時間以上浸漬するようにした。然し、実験 B に於いてはこの様な長時間の浸漬は行わなかった。浸漬用の液としては正常の Ringer 液 (Na Ringer) の外に前記の二種の Ringer 液を作成

* 大阪市立大学医学部生理学教室

第1表 三種の Ringer 液の組成

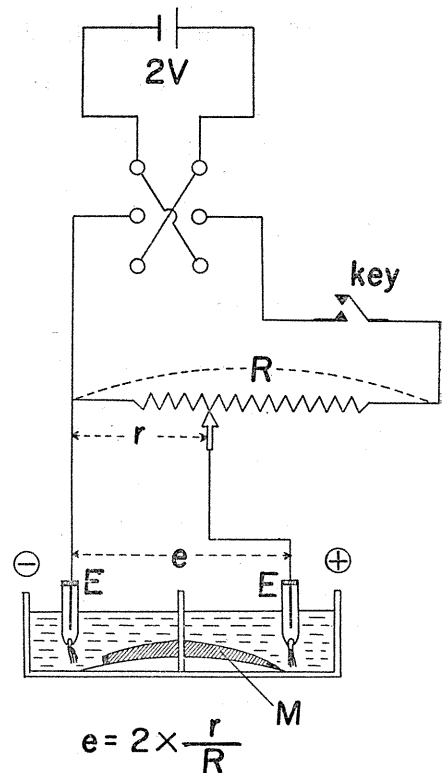
	蔗糖 Ringer	NH_4 Ringer	Na Ringer
NaCl (mM)	—	—	114
CaCl_2 (mM)	1.8	1.8	1.8
NH_4Cl (mM)	—	114	—
KHCO_3 (mM)	2.4	2.4	2.4
Sucrose (%)	7	—	—

しておき、これらを単独で或いは種々の割合に混合して用いた。各溶液の組成は第1表に示した通りである。これらの内、蔗糖 Ringer 液は長期の保存が出来ないため、実験の都度調製した。尚、この場合蔗糖は出来る限り良質のものをを用べきで市販の水砂糖を用いて作った蔗糖液は不純物を多く含むため本実験には不適當である。著者は全実験を通じて和光純薬製「スクロース」(試薬一級)を用いた。又、ACh 溶液は Merck 製 Acetylcholin chloratum を正確に秤量し、蒸留水でうすめて使用した。次で、前述のメカノグラムによる実験に引き続いて、実験 B, 3) に於いては縫工筋の基電圧 (Rheobase) の測定を行った。プラスチックの小箱を利用して杉氏の隔絶箱類似の容器を作り、この中に被検液を満し、筋の恥骨端にマイナスの電位がかかる様に筋を横たえる。電源には 2V のバッテリーを用い、第1図に示す如き電圧分割回路を使用して筋に平流刺激を加え測定を行った。電極は亜鉛-硫酸亜鉛の不分極性電極を用いた。著者の経験によると剔出直後の筋は測定値にいささか変動を来すので剔出後約30分位経った筋を用いる方がより安定した結果が得られる様に思われた。

最後に実験室温乃至季節の影響であるが、これは実験結果の上に大きな要因となって表われる。初夏室温 25°C 以上になると筋の ACh に対する感度は著しく低下を来すので、秋季 (10月) まで実験は先ず不可能と考えられ、以下述べる実験は大体温 $8\sim 22^\circ\text{C}$ の間で行ったものである。

Ⅲ. 実験成績

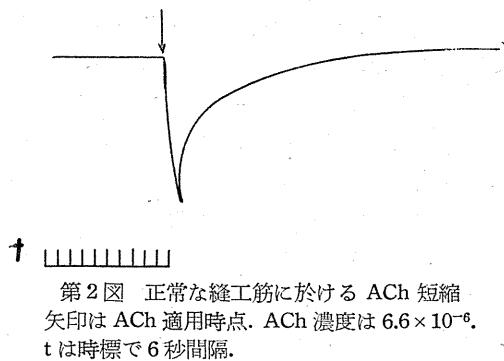
剔出縫工筋に稀薄な ACh 溶液を作用させると筋の短縮がおこる。これは ACh の作用によ



第1図 基電圧測定回路
E; 電極, M; 筋

り終板の脱分極がおこるからである。しかし、正常な興奮性を有する筋に於いては終板の脱分極が原因となって筋線維の反復興奮がおこり、それによる強縮が筋の短縮を惹起する上に主要な役割を演ずる事となる。しかしながら、終板の脱分極自身も直接に作用して筋線維の局所的短縮を惹起し得るのであり、筋線維の興奮性の低下している際には逆にこれが主要要因となって筋の短縮がおこる事がある。ここで云う短縮とは、機作の問題からはなれてただ筋の長さが短くなる事を意味し、従って、攣縮、強縮、痙縮等がこの中に含まれる。つぎに特に注意すべき事は、特別な溶液に筋を浸漬する事を行わず、Ringer 液中で実験を行う場合に於いても標本の状態の比較的僅少な変化によって、筋線維におこる反復興奮には多大の差違を生じる事である。正常な筋の ACh 短縮の1例を第2図に示した。

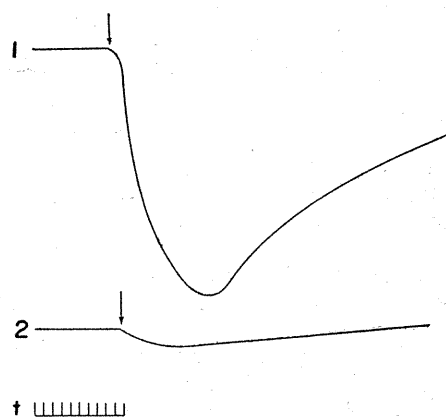
A. Na^+ を含みぬ溶液中での実験



神経及び筋の生理学に於いて Na^+ を含まぬ液として最もよく用いられるのは所謂 choline Ringer 液及び蔗糖 Ringer 液である. 所が筋の ACh による強縮乃至は痙縮を問題とする際には choline Ringer 液は用いる事が出来ない. と云うのは choline が筋終板に対し脱分極作用を有するからである. 故に, 著者は先ず予備実験として筋を蔗糖 Ringer 液に浸漬し ACh に対する反応がどの様に変化するか検してみた. その結果, 浸漬時間が短い場合には ACh に対して反応するが, 30分以上経過すると漸次反応が小となり, 約 1 時間後には全く ACh による短縮はおこらなくなることがわかった. これは大体筋が直接電気刺激に反応しなくなるのに要する時間と同じであり, 且つこのときには筋は外観的にも白濁を呈しやや膨化しているのが認められた. このように, 等張蔗糖液乃至は蔗糖 Ringer 液に浸漬した筋に於いて ACh による短縮のみられない事は既に 2, 3 文献上に記載⁸⁾¹⁴⁾があり, ここで再びこれが確認されたわけである. そこで著者は蔗糖以外に何かありふれたイオンで Ringer 液中の Na^+ を置換すればどうかと考えて実験を進める中, 偶然にも NH_4^+ を含む溶液に浸漬した筋に於いて著明な ACh 痙縮が惹起される事を見出した. 以下これについて説明しよう.

1) 蔗糖 Ringer 液と NH_4^+ Ringer 液との混合液中での実験

第3図に実験結果の1例を示す. これは別出縫工筋を蔗糖 Ringer 液と NH_4^+ Ringer 液とを等量混合した液 (以下 1:1 蔗糖- NH_4^+ Ringer



液と呼ぶ) 45cc に 2 時間浸漬したものに就いて実験したものである. この際 Na^+ の洗い出しを完全にするために浸漬後 1 時間目に液を新しいものと取替えた. 図に見られる通り, ACh を適用したときにおこる筋の短縮は甚だ著明である. この筋は Na^+ のない環境におかれているから, 筋線維の興奮性は全く失われていると考えられ, ACh によって惹起される短縮は全く局所的な痙縮に由来すると考えられる. この ACh 痙縮の著明な事はむしろ驚くべき程であって Ringer 液中に浸漬した対照筋の ACh 短縮よりも強い場合が大多数であった. ここで注意すべき事は NH_4^+ Ringer 液に浸した筋に於いては ACh 痙縮が全く起らないことであって, これは NH_4^+ は筋線維に対して何等かの害作用を及ぼすもので濃度が高い場合にはそれが強度になる為に痙縮が起らなくなると考えればよいのではないかと思う. 次に蔗糖 Ringer 液と NH_4^+ Ringer 液との混合比であるが等量混合以外に, 2:1, 或いは 1:2 の割合で混合した液に就いても実験を行った. 第2表は 3 種類の Ringer 液による浸漬液の混合比を示すものである. 何れの場合でも被検筋の浸漬液は Na^+ の代りに常に NH_4^+ を含み, 対照筋のそれは逆に NH_4^+ を欠き常に Na^+ を含むものを用いた. その結果は第3表に示す通りであるが, そのいずれに

第2表 三液の混合割合 (説明本文)

	I		II		III	
	被検筋	対照筋	被検筋	対照筋	被検筋	対照筋
蔗糖 Ringer	1	1	2	2	1	1
NH_4 Ringer	1	—	1	—	2	—
Na Ringer	—	1	—	1	—	2

第3表 縫工筋に就いての実験結果 (説明本文)

浸漬液例数	I*		II*		II*	
	被検筋	対照筋	被検筋	対照筋	被検筋	対照筋
ACh による筋の短縮	冊	—	冊	±	冊	±
	冊	—	冊	±	冊	—
	冊	—	冊	—	冊	±
	冊	±				
	冊	±				

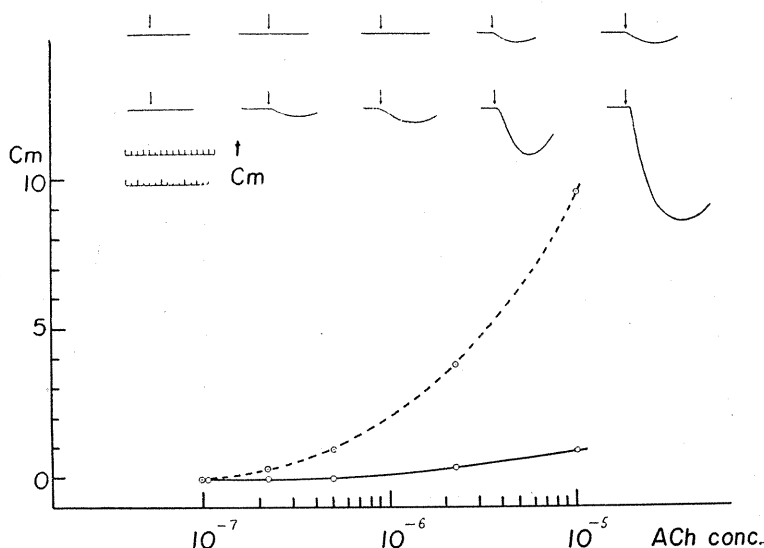
* 第2表参照, +, —などの記号は, 筋の短縮程度を表すもので, メカノグラムで測った場合と比較すれば次の如くなる。即ち, 冊 (超強度) 10cm 以上, 冊 (強度) 7.5~9cm, 冊 (中等度) 4~6.5cm, + (弱) 2~3cm, ± (微弱) 3~7mm, — (収縮せず)。

於いても著明な収縮が証明せられた。中でも最も収縮の強いのは蔗糖 Ringer 液と NH_4 Ringer 液とを 1:2 の割合に混合した液に浸漬した場合である。一方混合比をこれ以上に大きくして一方の成分の割合を増加してゆくといずれの場合にも ACh 収縮は著しく減弱する様であった。

2) ACh 濃度と収縮の高さとの関係

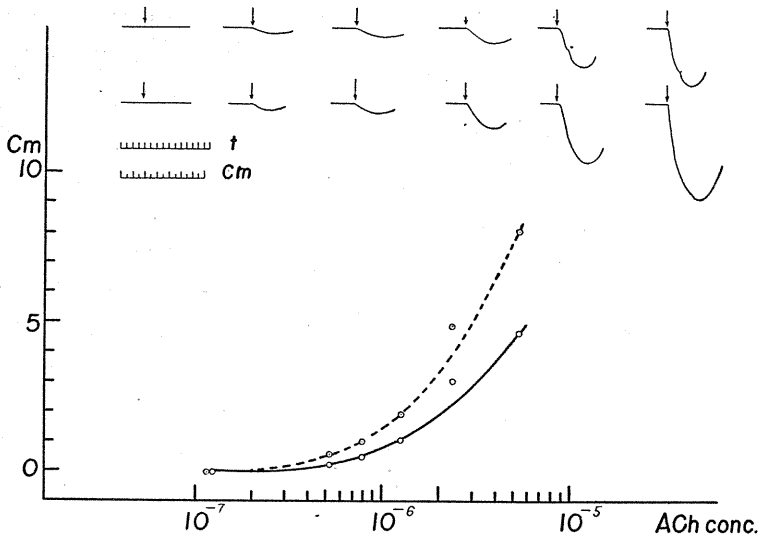
第4図の破線は 1:1 蔗糖 NH_4 Ringer 液に浸漬した筋に就いて ACh 濃度 (対数目盛) と収縮の高さとの関係を示したものである。実線は対照で, 同一動物の対側の筋を 1:1 蔗糖 Na Ringer 液に浸漬したものに就いて行ったものである。この実

験に於いては同一筋について ACh を一番稀薄な濃度のものから濃いものへと順番に作用させて行ったものであるが, 一度 ACh を適用した後は速かに之を洗い去り, 更に15乃至30分間溶液に浸漬して筋の ACh に対する感度を恢復させる様注意した。図の上部に二段にならんだメカノグラムはキモグラフィオンに描記された収縮の時間経過を示したもので, 上段が対照筋に就いての記録, 下段が被検筋のそれを示す。矢印はいずれも ACh 適用の時点である。 2×10^{-6} 及び 10^{-5} ACh を適用した時の短縮の大きはいずれも対照筋のその約10倍になっている。しかしこの様な同一筋で再三反応を検する実験は実施が比較的困難であって, 毎回同じ結果が得られるとは限らない。第4図は同様の実験を数回行った内最も典型的と思われる1例を示したものに過ぎないが, 第3図に1例を示した様な他の多数の実験結果とも矛盾しないから大略正しいものと思われる。この点は次に示す第5図についても同じである。しかしながら, 閾濃度に近い ACh を適用する場合は比較的 repro-



第4図 ACh 濃度と縫工筋収縮の高さとの関係

縦軸は筋の収縮の高さ (cm) を, 横軸は ACh 濃度を対数で示す。破線は 1:1 蔗糖- NH_4 Ringer 液中の収縮。実線は蔗糖-Na Ringer 液中での対照筋の短縮を示す。図の上部に二段に示してあるメカノグラムは筋の収縮高を表したもので, 上段は対照筋, 下段は被検筋のものである。矢印は ACh 適用時点。t は時標で 6 秒間隔。Cm の目盛は 2 目盛が 1cm で図の縮尺を示す。



第5図 ACh 濃度と縫工筋収縮の高さとの関係

破線は 1 : 1 NH_4 -Na Ringer 液中の収縮。実線は Na Ringer 液中でのもの。その他は全て第4図に準ずる。

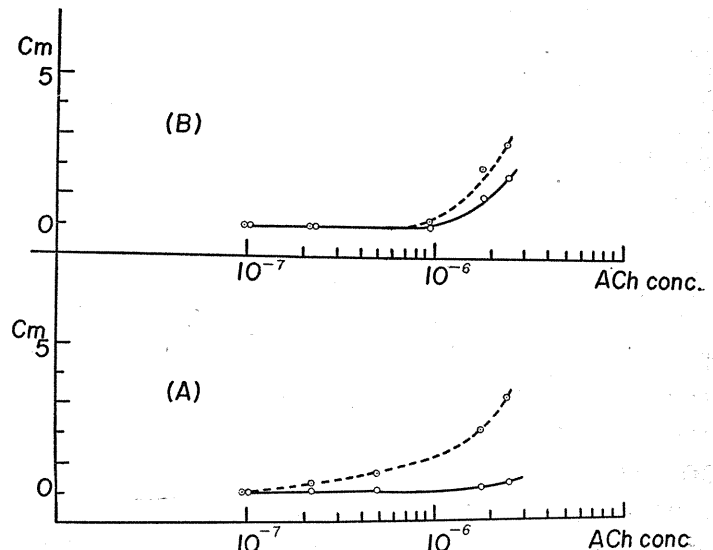
ducible な結果が得られるのであって、第6図(A)にそれを示す。これは3例の結果を平均にしたものであるが、蔗糖 NH_4 Ringer 液に浸漬した筋に於いては対照筋に比較し、約 1/10 の ACh 濃度で短縮の始まることが分る。第5図は同様の実験を Na Ringer 液と NH_4 Ringer 液との等量混合液に浸漬した筋に就いて行ったものである。この場合対照筋は Na Ringer 液に浸漬した。此の図に明かな通り、この場合には NH_4^+ の促進作用はあまり著明でない。しかしながら、Na Ringer 液中の対照筋では ACh に対する反応に強縮の要素が多分に含まれている事を考え合わせるならば ACh による終板の脱分極に対する NH_4^+ の促進作用はやはり存すると考える事が出来よう。第6図(B)は閾濃度にはっきりした差のないことを示す。

3) 蔗糖 NH_4 Ringer 液中の Ca^{++} の影響

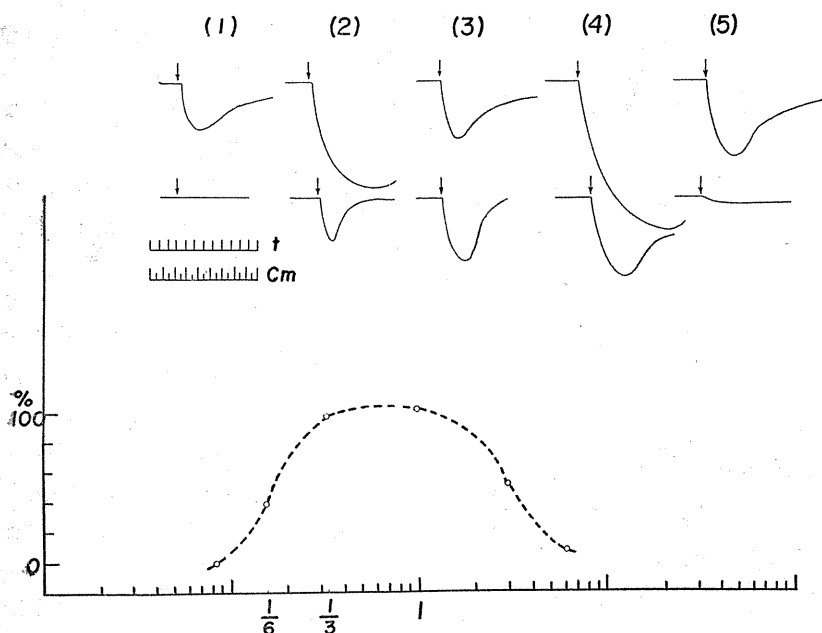
蔗糖 NH_4 Ringer 液中の蔗糖

及び NH_4Cl の量を増減する事の影響に就いては既に前述した通りであるが、ここでは他の陽イオン即ち K^+ 及び Ca^{++} に就いて考えてみよう。まず K^+ であるがこれは除去しても ACh 収縮の発生に何等障害を与えるものではない。所が Ca^{++} は非常に重要であって、これを全く除去すると収縮は全然起らなくなる事が判った。即ち、等張蔗糖液と等張 NH_4Cl 液との混合液

中では ACh 収縮は全く起らない。この現象はいささか興味があるように思われたので、 Ca^{++} の量を種々増減した場合の影響を検索して見た。第7図はその結果を示したものであって、横軸は CaCl_2 の濃度を標準濃度 1.8mM の倍数で表わし、縦軸には収縮高を標準 CaCl_2 濃度の場合の百分率で表わしたものである。挿入図は



第6図 閾濃度附近に於ける縫工筋の ACh 収縮
(A) は第5図のものに、(B) は第6図にそれぞれ相当。値は3例のものの平均である。

第7図 1:1 蔗糖- NH_4 Ringer 液中の Ca^{++} の影響

縦軸は筋の収縮高を標準 CaCl_2 濃度の場合の百分率で表す。横軸は CaCl_2 濃度を標準濃度 1.8mM の倍数で表す。図の上部に2段に示してあるメカノグラムは、筋の収縮高を示すもので(1)は Ca^{++} を含まない場合、(2)は正常量の $1/6$ 、(3)は $1/3$ 、(4)は3倍、(5)は6倍の場合の収縮を示す。上段は何れも対照で、 1.8mM の CaCl_2 を含む液中のものである。矢印は ACh 適用時点。ACh 濃度は 6.6×10^{-6} 。t は時標で6秒隔間。Cm の目盛は2目盛が 1cm で図の縮尺を示す。

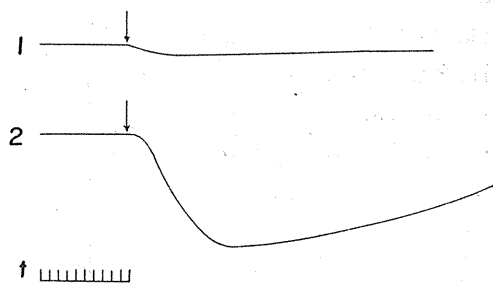
メカノグラムを示すものである。この実験は検査した濃度が粗く不充分なものであるが、 CaCl_2 が標準の $1/6$ 即ち 0.3mM 以上或は4~6倍以上になると収縮が非常に弱くなる事が分る。ここで Ca^{++} の濃度の低い場合に収縮が減弱する事の原因が問題となるが、これは筋線維の短縮能力自身が減弱する事が主因をなしている様に思われる。と云うのは、強い感応電撃で刺激する場合 Ca^{++} を含む蔗糖 NH_4 Ringer 液に浸漬した筋では局所短縮がみられるが、 Ca^{++} を含まぬ液に浸漬したものでは短縮が全く見られないからである。又、等張塩化カリ液を適用する事によっておこる収縮に就いても同様の事が証明される。即ち KCl 収縮も Ca^{++} のない蔗糖 NH_4 Ringer 液に浸漬した筋では証明されないのである。一方終板の ACh による脱分極は Ca^{++} の有無に拘わらず起る事がわかっている⁹⁾。次に、 Ca^{++} 濃度を増加した時の減弱効果の原因は未だ詳細に検索していないが、恐らく Ca^{++}

の形質膜の透過性を一般的に減少せしめる性質によるのではないかと考えられる。

4) ワゴスチグミンの影響

筋を蔗糖 NH_4 Ringer 液に浸漬する際にワゴスチグミンを加えておくとその筋の AC 収縮が相当に増強される。実験は 1:1 蔗糖 NH_4 Ringer 液及び 2:1 蔗糖 NH_4 Ringer 液に就いて各々2例ずつ行い、ワゴスチグミンは 10^{-5} の割合で浸漬液に添加した。用いた

ACh の濃度は 6.6×10^{-7} であって比較的稀薄なため、ワゴスチグミンを作用させてない対照筋に於いては、全然短縮が見られないか或いは弱い短縮がみられたにすぎないのに反し、ワゴスチグミンを併用した被検筋に於いては相当強い短縮がみられ、全例に於いて相当な増強効果が証明せられた。第8図はその1例であるが、こ



第8図

縫工筋の収縮に対するワゴスチグミン添加の影響 (1) は対照で、1:1 蔗糖- NH_4 Ringer 液中のもの、(2) はワゴスチグミン (10^{-5}) 添加。矢印は ACh 適用時点。ACh 濃度は 6.6×10^{-7} 。t は時標で6秒隔間。

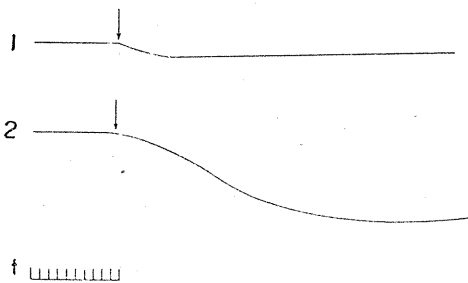
れは 1:1 蔗糖 NH_4 Ringer 液に就いて行ったものである。ワゴスチグミンの増強作用はその choline esterase の阻害作用によるとせられているが、この様な異常な液に浸漬した筋に就いても促進作用の証明される事は興味がある。

5) 直腹筋に就いての実験

今迄縫工筋について行ったのと同様の実験を直腹筋に就いて試みた所、全く異なる結果が得られた。第9図にその1例を示す。即ちこの筋に於いては Na Ringer 液中或いは蔗糖 Ringer 液と Na Ringer 液との混合液中では著明な ACh 痙縮がみられるのに反し、蔗糖 NH_4 Ringer 液に浸漬したものに於いては痙縮は非常に減退している。この事は蔗糖 Ringer 液と NH_4 Ringer 液との混合比を種々変化しても同様であった。又ワゴスチグミンを添加しても、促進効果を検出する事は出来なかった。第4表はそれらの結果を一括して示したものである。

B. 比較的少量の NH_4^+ 、及び K^+ 添加の影響

実験Aの部に於いては浸漬液が Na^+ を含まないという点に重点を置いたもので、その為



第9図

1. 1:1 蔗糖糖- NH_4 Ringer 液中に於ける直腹筋の痙縮。2. 対照として行った蔗糖-Na Ringer 液中に於ける同筋の痙縮。矢印は ACh 適用時点。ACh 濃度は 6.6×10^{-6} 。t は時標で 6 秒間隔。

第4表 直腹筋に就いての実験結果 (説明本文)

浸漬液例数	I*		II*		III*	
	3	2	2	3	3	3
	被検筋	対照筋	被検筋	対照筋	被検筋	対照筋
ACh による筋の短縮	-	+	-	+	+	+
	-	+	-	+	-	+
	+	+	-	+	-	+

* 第2表参照。+, -などの記号については第3表参照。

いた浸漬液の組成は普通の Ringer 液とは非常に異った、いわば異常な組成のものであった。所が実験を行っている中に、 NH_4^+ はこれの比較的少量を Ringer 液に添加する場合にも、縫工筋の ACh による短縮を著しく増強する作用のある事が証明せられたので、以下これに関しに行った2, 3の実験に就いて述べる。

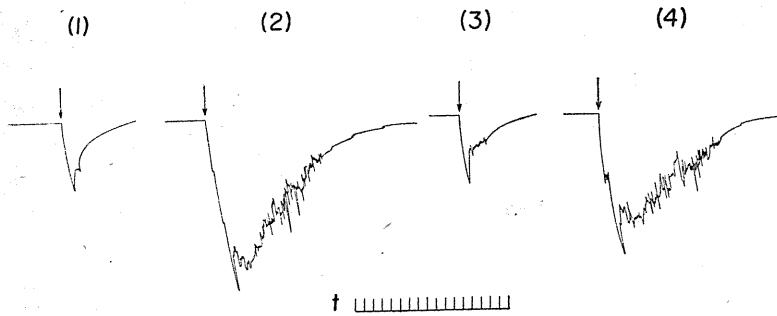
1) 少量の NH_4^+ を含む Ringer 液中での実験

まず縫工筋について実験を行った。第10図は 6mM の NH_4Cl を含む Ringer 液による促進効果を示したもので全部同一の筋について行ったものである。即ち 1) は剔出して Ringer 液に浸漬しておいた筋に ACh を適用した時の短縮であるが、其後直ちに ACh を洗い去り約30分間筋を Ringer 液中に浸漬放置した。2) は此の筋を NH_4Cl 6mM を含む Ringer 液に15分間浸漬した後に ACh を適用して得られた短縮を示す。次いで、同様の順序で実験を行い Ringer 液中で 3) NH_4Cl 添加の Ringer 液中で 4) が得られた。即ち 2) 及び 4) を対照の 1) および 3) と比較すると、 NH_4^+ の添加によって、筋の ACh 短縮が増強されている事が明かにわかる。これは典型的な実験例であるが、6mM の NH_4Cl を添加して行った他の大多数の実験例に於いて同様の結果が得られた。第5表にこの結果を示す。此の表には同時に直腹筋に就いての結果を示したが、これに於いては NH_4^+ はむしろ抑制的に働く様に思われ、縫工筋と逆の結果となっているのは興味深い事である。なお、第10図の実験例に於いては NH_4^+ を作用させる時間は15分であったが、この作用時間の長短は実験結果に著しい影響を及ぼさない様である。即ち NH_4Cl 6mM を含む液に筋を浸漬しその直

第5表

ACh 短縮に及ぼす少量 (6mM) の NH_4Cl の影響

	縫工筋		直腹筋	
	例数	%	例数	%
感度低下	0	0	3	50
無作用	0	0	2	33
弱	3	20	1	17
中等度	5	30	0	0
強	8	50	0	0

第10図 少量の NH_4^+ 添加による ACh 短縮の増強

(1) と (3) は正常 Ringer 液中でのもので、(2) と (4) は 6mM の NH_4Cl を添加した液中のもの。番号の順序で同一の縫工筋について反復実験を行った。矢印は ACh 適用時点。ACh 濃度は 6.6×10^{-6} 。t は時標で 6 秒間隔。

後に検しても、15分間作用せしめた場合と同様な促進作用がみとめられた。これは外部から適用する ACh は筋の表面から作用するのであるから、むしろ当然の事と考えられる。また、浸漬時間が 1 時間以上にわたっても同様に促進作用がみとめられた。即ちこの程度の濃度に於いては NH_4^+ は少くとも縫工筋に対しては何等害作用を示さない様に思われるのである。 NH_4Cl の添加量が 2.5mM の場合にも 2 例中何れの場合にも中等度の促進効果がみとめられた。添加量を 6mM をこえて多くすることは行わなかった。然し、実験 A の部に於いて 55mM の NH_4Cl を含むものが促進効果を有する事は既に述べておいた。さて、この第10図に示した実験成績からわかる様に、6mM の NH_4Cl 添加による短縮の増強は、主として筋線維の攣縮乃至は強縮の増強によるもので、痙縮の増強によるものではないと思われるので、Tetrodotoxin を添加して筋線維の興奮性を低下せしめたのち、ACh を適用して見た。その結果は第11図に示す如く、ACh は著しく小となり、且つスムーズな曲線となってしまい、 NH_4Cl 添加による促進は表れないことが分った。

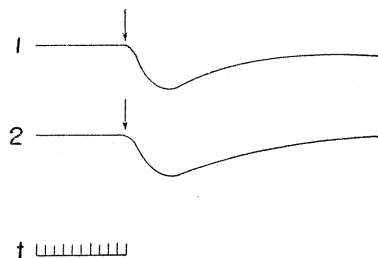
Tetrodotoxin は甚だ強い麻痺作用を有するにも拘わらず、古河等⁷⁾の検証した如く、筋終板の ACh による脱分極に対しては何等抑制作用を示さないから、この毒物を用いたのちは筋線維の興奮性低下により、ACh 短縮が現われ難くなるので NH_4Cl の効果は認められなくな

るのであろう。

2) K^+ 添加の影響

KCl 添加の ACh 短縮に対する影響は既に Wachholder und Matthias¹⁵⁾ により検討されており、その結果によると Ringer 液中の KCl 量を 1.2mM より 4mM に増量するとはっきりした増成作用があらわれたと云う。

等は更に 4mM と 12mM とを比較している。これに於いては浸漬時間によって結果に差を生ずると云い Rectus 及び Extensor metacarpi に於いては15分位の短時間の浸漬によってのみ一層の増強作用が証明されたが、縫工筋および Flexor carpi radialis に於いては増強作用を証明するには25~90分の長時間の浸漬が必要であったとのべている。この様に KCl 添加により短縮増強作用があるとされているので、これが上述の NH_4Cl 添加による効果と比較してどの程度のものであるかを検討する為若干の実験を行った。本実験に於いて標準的に用いた Ringer 液は 2.5mM の KCl を含んでいるので、ここへ更に KCl を添加して合計 5mM (2 例)、7.5mM (6 例)、及び 14.5mM (2 例) とした場合に ACh



第11図

NH_4^+ の縫工筋短縮増強作用に対する Tetrodotoxin の影響

(1) 対照 Ringer 液に 10^{-5} Tetrodotoxin を加えた浸漬液中のもの。(2) 6mM の NH_4Cl を含む Ringer 液に 10^{-5} Tetrodotoxin を加えた浸漬液中のもの。矢印は ACh 適用時点。ACh 濃度は 6.6×10^{-6} 。t は時標で 6 秒間隔。

第6表 ACh 短縮に及ぼす KCl の影響
(すべて NaRinger 液中の対照実験と比較した).
外液中の KCl の量 例数 縫工筋 直腹筋

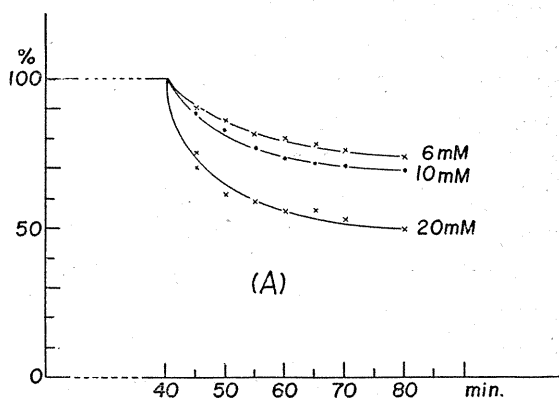
14.5mM	2	{	不変	弱促進
			不変	不変
			不変	不変
7.5mM	6	{	不変	弱促進
			不変	弱促進
			不変	弱促進
			不変	弱促進
			弱促進	弱促進
5.0mM	2	{	不変	弱促進
			弱促進	弱促進

短縮がどの様に変化するかを検した。その結果は第6表に示す通りであるが、縫工筋に於いては大多数の例に於いて無作用であり、増強作用のみられた2例に於いてもその程度は甚だ微弱であった。一方直腹筋に於いては大多数の例に於いて弱い乍ら短縮増強作用が証明せられた。これを NH_4Cl 添加の効果と比較してみると縫工筋に於いては NH_4Cl 添加の場合の様な著明な増強作用は到底証明出来ず、直腹筋に於いては効果が正反対となっている。これ等の諸点は甚だ興味のあることであるから、考察の項で再び論ずることにする。

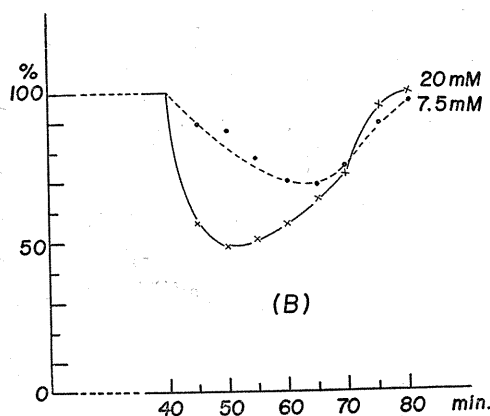
3) 基電圧に対する作用

杉氏の隔絶箱類似の装置を用いて縫工筋の基電圧を測定し、これに対する NH_4Cl 及び KCl 添加の影響を検討した。この場合筋の直接刺激の閾値を測定する事が目的であるので隔絶する部位はなるべく筋の近心端に近い部位にした。それでもまず神経が刺激せられて間接刺激となるおそれがある様に思われたので、初期の実験に於いては筋を予め 10^{-5} の濃度の Tubocurarine chloride を含む Ringer 液に15分間浸漬し且つ以後作用させる液にも全て Tubocurarine chloride を添加したものをを用いてこれを防ぐ様にした。しかしこの事は必要でない事が判明したので後の実験は Tubocurarine chloride は添加しないで行った。測定を行うときには筋を隔絶箱に装置して最初は両方の部屋に Ringer 液を満し、時々基電圧を測定し

約30分間それが一定であることをたしかめておき、次で両方の部屋に被検液を満し、以後時間を追って測定を行った。この際基電圧の測定には筋に最小の短縮のおこるのを目標にして行った。その結果は第12図 (A) に示す通りである。まず、 NH_4Cl 添加の影響であるが、これは6, 10及び20mM について行ったがそのいずれに於いても基電圧は徐々に低下し30乃至40分後には大略一定となり以後その水準に止った。所が KCl 添加の場合に於いてはやや異り一度基電圧が下降して後10乃至20分後から再び上昇に転じ、遂にもとの水準に戻ってしまった。これを第12図 (B) に示す。この結果に於いては KCl 作用後一定時間は明かに興奮性が上昇しているにも拘わらず、前述の ACh 短縮に於いては増強作用が著明でない事は一見矛盾する様に思われる。そこで KCl を含む液に浸漬する時間を適当にえらべば、増強作用が証明されるのではないかと考え、2, 3 の実験を試みたが、 K^+ に於いては NH_4^+ の場合に見られた如き明かな短縮の増強作用を証明する事は出来なかった。これは結局 ACh 短縮に於いては ACh が表面より適用される関係上、一番外側の筋線維が関与し、この外側の筋線維に於いては KCl による変化は非常に速に進み一度興奮性が高まっても、間もなく元に戻るのも ACh 短縮の増



第12図 (A) NH_4Cl 添加による縫工筋の基電圧の変化
縦軸は基電圧で、Ringer 液中に於けるものを 100 とし、それに対する百分率で示す。横軸は時間。初めの40分間は Ringer 液中で測定し、次の40分間は NH_4^+ を添加した Ringer 液中で測定。



第12図 (B)

KCl 添加による縫工筋の基電圧の変化
スケール, その他は第12図 (A) に準ずる.

強作用が検出出来なかったのではないかとと思われる. 一方基電圧の測定にはもっと深部の筋線維が関与しているのではないかとと思われる.

IV. 考 察

1) 前述の実験結果から見て NH_4^+ が, 縫工筋の ACh 短縮を著しく増強する事は明らかである. 然し, 同じく増強作用であっても, 作用させる NH_4^+ の濃度により, その作用機作は著しく異なる様に思われる. まず 6mM 程度の少量の NH_4Cl を Ringer 液に添加する場合の影響について考えてみよう. 云う迄もなく ACh はまず筋線維の終板部に作用しその脱分極を起すのであるが, この程度の濃度では NH_4^+ がそれを増強する事は認められない⁶⁾. 一方, 実験成績の項でも述べた如く, 筋の興奮性は明かに高くなっており, その結果終板の脱分極に引きついて容易に筋線維の単一或は反復活動電圧が発生しうるわけである. 少量の NH_4^+ の増強作用は一応この様にして説明出来るが, 一步進んで何故に NH_4^+ の作用によって筋線維の興奮性が高くなるかと云う事は明瞭でない. この点に関しては, まず NH_4^+ の脱分極作用が考えられるが, 6mM 程度の脱分極作用は甚だ弱いものであって, とるに足りない様に思われる. 次に NH_4^+ は今少し濃度が高い場合には終板の ACh による脱分極に直接関係する. 筋終板の ACh

による脱分極の機作に関しては, Fatt and Katz (1951) により所謂短絡説²⁾ が提唱せられており, これによると, ACh が作用すると終板部の膜は Na^+ 及び K^+ のみならず各種のイオンに対し透過性となり, このためその部の脱分極がおこると云われている. この説は見事な実験結果に基いており, 現在一般にもっとも信じられている様であるが, これに対しても異説がない事もない. 即ち Nastuk¹⁰⁾ は彼の発案した ACh の局所適用の技術を用いて実験を行い蔗糖 Ringer 液に浸漬した筋に於いては ACh による終板の脱分極がおこらない事を見出し, その事から短絡説に反対を唱え, 終板部の膜は ACh が作用すると選択的に Na^+ に対し透過性になると主張している. 大体, Na^+ を含まない溶液に浸漬した筋に於いては ACh の適用による筋の短縮がおこらない事は既に古くから記載があり¹⁴⁾, Fatt⁴⁾ もこれを確認しているが, この様な場合にも終板の電気的な脱分極は弱い乍ら起ると云うのが Fatt 等の意見⁴⁾ であり, これが Nastuk により否定せられたわけである. 然しながら著者の実験結果によると, 前述した如く, 同じく Na^+ を含まない液であっても, それに相当量の NH_4^+ が含まれている場合には, これに浸漬した筋に於いて ACh による収縮が極めて著明に起りうるのである. 且つ, 此の場合 NH_4^+ を含む液に浸漬した方が, 同量の Na^+ を含む液に浸漬した場合より収縮の度かはるかに強い. この様な Na^+ を含まない液に浸漬した筋に於いては筋線維は全く興奮性を失っており, 活動電位を発する事がないから, この様な筋に於ける ACh 収縮は終板の脱分極が活動電位を介する事なく, 直接に筋の短縮を起したものと解すべきものである. 著者等は電気的方法を用いて, 上述の諸点を裏づける様な結果を得⁵⁾, 終板の ACh による脱分極に関して, NH_4^+ は単に Na^+ の代用となるばかりでなく更にそれを増強する作用のある事を明かにした. 著者のこの様な実験結果からすると, Nastuk の実験に於いては外液中に陽イオンがない為に, 終板の脱分極が起らなかったものと解釈出来る. 即ち短絡説の云

う如く、膜が各種多数のイオンに対し透過性になる場合に於いても、膜の脱分極が起る為には陽イオンが侵入するか、陰イオンが遊出するかの2つの方法しかないものであり、且つ後者の過程は筋内部のイオン組成よりして起りにくいと考えられるから、外液中に陽イオンを全く含まない場合には脱分極が起りにくい事が理解出来る。又、短絡説に於いて膜が各種のイオンに透過性になると云っても、具体的には僅かに Na^+ 及び最近になって K^+ に就いて証明¹⁾ されているにすぎない。本研究に於いて NH_4^+ が Na^+ と同じく透過性である事が証明せられたわけであり、この知見は短絡説に1つの根拠を追加した事になると思われる。次に NH_4^+ の短縮増強作用であるが、この場合終板の脱分極は NH_4^+ を含む液に浸漬した筋の方が同量の Na^+ を含む液に浸漬した対照筋よりも著しく大きい⁵⁾ のであって、これが増強作用の最も重要な因子である事は疑がない。そして、その事自身の理由は未だ明らかでないが、 NH_4^+ の方が Na^+ よりも膜を通過し易いのではないと思われる。それにしても蔗糖 NH_4 Ringer 液に浸漬した筋の ACh 収縮はあまりにも著明であるから、前述の終板の脱分極の促進以外に NH_4^+ の作用で筋の収縮が起り易くなると云う事も考えねばならないかも知れないが、目下の所では何とも云えない。

2) NH_4^+ に関して、更に興味のある事は、その作用が縫工筋と直腹筋とで殆んど正反対と云える程に異なる事である。蛙や蟄の筋はかり以前から、Sommerkamp¹²⁾、や Wachholder¹³⁾ 等により ACh に対する反応態度によって緊張筋と非緊張筋とに分けられているが、この点は最近 Kuffler⁹⁾ 等によって詳細な研究が行われ種々の点が明かにされて来た。即ち蛙に於いては筋線維には攣縮線維と緩徐線維の2種があり、前者は普通のもので直径約 12μ 位の太い神経線維の支配を受け、終板は1本の筋線維につき一カ所或いは二カ所に止る。所が後者の緩徐線維は直径約 5μ 程度の細い神経線維の支配を受け、しかも終板は筋線維の全面にわたって多数のも

のが散在する。また、この筋線維は静止電位も低く、それ自身活動電位を発することはなく、終板電位が直接に依りて筋の短縮を起すと云われている。さて縫工筋は殆んど攣縮線維のみから成り、一方直腹筋は攣縮線維も含むが、主として緩徐線維よりなると云われているから、著者は此の2種の筋を用いて、 NH_4^+ の作用を比較したわけである。その結果は上述の通りであるが、これを一言にして云うと、 NH_4^+ は攣縮線維の ACh による短縮に対し促進効果を有するが、緩徐線維のそれに対しては抑制効果を示すものと云える。この抑制効果は 6mM 程度の NH_4Cl を Ringer 液に添加した液を作用させる場合に於いても既に著しくあらわれ、且つ KCl 添加はむしろ促進的に作用するのであるから膜電位の低下がこの抑制効果の原因であるとは考えにくい。むしろ NH_4^+ が終板の脱分極を何等かの機序で妨げているものと考えられるが、詳細は今後の研究にまたねばならない。

V. 要 約

著者は前報告に引続き別出した蟄の骨骼筋について、アセチルコリン (ACh) 短縮に対する NH_4 イオンの作用を検討した。即ち、縫工筋と直腹筋とを用い、これを NH_4 イオンを含む液に浸漬したのち、ACh による筋の短縮を観察して、Na Ringer 液の場合と比較した。その結果、2, 3の注目すべき成績に達したが、著しい事実として、 NH_4 イオンの効果が両種の筋に於いて正反対に近い事がわかった。

1) 縫工筋に於ける成績

NH_4 イオンは ACh による縫工筋の短縮を増強する作用がある。しかし、この作用機作は作用させる NH_4 イオンの濃度により全く異なるように思われる。第一に 6mM 程度の NH_4Cl を Ringer 液に混じる場合にも ACh による短縮は増強されるが、これは筋の活動電位発生の閾値が低下する為であると考えられる。第2に大量の NH_4 イオンの作用は終板の ACh による脱分極に直接関係している。即ち NH_4 イオンは終板の ACh による脱分極に関して Na イオンの代

用となるばかりでなく、非常に脱分極を促進せしめる。

2) 直腹筋に於ける成績

この筋に於いては NH_4 イオンは ACh 短縮を非常に強く抑制する作用がある。この作用は 6mM 位の濃度でも既に著明に認められた。

終りに臨み、御指導及び御校閲を賜った、細谷教授並びに古河講師に対して心から感謝致します。

文 献

- 1) Castillo, J. Del. & B. Katz (1955) J. Physiol. 128, 396
- 2) Fatt, P. & B. Katz (1951) J. Physiol. 115, 320
- 3) Fatt, P. (1950) J. Physiol. 111, 408
- 4) Fatt, P. (1954) Physiol. Rev. 34, 674
- 5) Furukawa, T. & T. Takagi (1956) Jap. J. Physiol. 6, 98
- 6) Furukawa, T. & T. Takagi (1956) unpublished data
- 7) Furukawa, T., T. Sasaoka & Y. Hosoya (1956) unpublished data
- 8) Hodgkin, A. L. & B. Katz, (1949) J. Physiol. 108, 37
- 9) Kuffler, S. W. & E. M. Vaughan Williams (1953) J. Physiol. 121, 318
- 10) Nastuk, W. (1953) J. Cell. and Comp. Physiol. 42, 249
- 11) Overton, E. (1902) Pflüg. Arch. ges. Physiol. 92, 346
- 12) Sommerkamp, H. (1928) Arch. f. exper. Path. 128, 679
- 13) Wachholder, K. und J. F. von Ledebur (1930) Pflüg. Arch. ges. Physiol. 255, 627
- 14) Wachholder, K. und F. Matthias (1933) Pflüg. Arch. ges. Physiol. 232, 159
- 15) Wachholder, K. und F. Matthias (1933) Pflüg. Arch. ges. Physiol. 232, 11

Summary

Studies were made on the effects of ammonium ion on the shortening of the excised skeletal muscle due to acetylcholine (ACh) externally applied. The m. sartorius and m. rectus abdominis of toad were used. They were immersed in various solutions containing ammonium ion. The effects of ammonium ion on these two muscles were found quite different.

1) M. sartorius

Ammonium ion was found to have an augmentative effect on the response of the sartorius muscle to the applied ACh. But, the mode of action seems to differ completely as concentrations of ammonium ion changed. First, a small amount of ammonium ion, e. g., 6mM., mixed in Ringer had an augmentative effect on ACh shortening of the muscle. In this case, however, the depolarization of the end-plate was not increased by the presence of such small amount of ammonium ion, and the augmentative effects must be explained on the basis of a lowered threshold for the generation of the muscle action potentials. Second, a large amount of ammonium ion seems to have a direct action on the depolarization of the end-plate due to ACh. In this experiment, the muscle to be tested was immersed in various sodium-free solutions. As is well known, a muscle immersed in sucrose-Ringer showed no ACh shortening. But, a muscle immersed in a mixed solution of sucrose-Ringer and ammonium-Ringer showed very strong ACh contracture. This contracture seems to be evoked directly as a result of the depolarization of the end-plate due to ACh, for there can be no action potential in a muscle immersed in a sodium-free solution. Thus, it became clear that ammonium ion could replace sodium ion concerning the depolarization of the end-plate due to ACh. It was a remarkable finding that ACh contracture of the ammonium treated muscle proved to be very much intensified.

2) M. rectus abdominis

Ammonium ion had a marked depressing effect in this muscle. This finding was already evident at a concentration of 6mM.

(Department of Physiology, Osaka City University Medical School)

地方小学会報

第7回日生理学会中国四国部会(つづき)

時 昭和30年11月13日

所と当番 鳥取大学医学部生理学教室

27. 香川 信(広大生理)

心臓の比較生理

節足動物、軟体動物の数種の心臓を用い、肉眼的、組織的所見及び機械曲線、偽作電流により心搏動の生理的狀態、イオン作用による変化の觀察をし、比較生理的に次の結果を得た。

1) イオン作用は全てKイオンでは収縮性に、Caイオンは弛緩性に反応し、各動物心に対し質的には差は認めない。又かかる反応は蛙とは全く反対の現象である。又生理的偽作電流の変化、局所的イオン作用による機械曲線の変化を認め、同一心でもその部位により搏動に差のあることを知った。

2) 一房一室より成る軟体動物では、心筋繊維束の集団を明かに認めるも、心筋内に神経素を認めない。1)と共に考え、かかる筋束集団が心搏動に大なる力ある事を知る。

3) 一室よりなるかに類では心筋繊維束集団を有するものと、無いものとがあるが、いずれも、神経節、神経繊維を有し、心筋中にあるものは未発達と思える神経節であり、心筋外にあるものは高度に発達した神経節細胞であるが、その組織像は内腔神経節のそれと類似している。併しかかる動物では神経束が心臓搏動に大なる作用のある事を知った。

4) 二房一室より成る章魚では心室筋は高度に発達し、心室内に著明なる神経節を認めしかもそれより多数の神経繊維が筋中を走る。又他の実験よりして心外神経の作用を受けているので、これ等三種の要素が調和して心搏動が成立する事を知った。

追加 今後 EKG, イオン濃度の差, イオン局在的作用反応を追求したいと思う。

28. 森田 聰(広大生理)

脾臓リンパの生成に就いて

犬の脾臓並び小腸を千倍脱纖維素血 Ringer 氏液で灌流し、灌流圧の変化と、血管流量及びリン

パ生成量の変化を追求した結果、脾臓に於けるリンパ生成量は先に八田等の報じた如く著しく少量で、灌流圧 100~125cmH₂O に於いて血管流量に対するリンパ生成量が最も大で、それ以下の圧又はそれ以上の圧では、血管流量に対するリンパ生成量の比は小となる。又、灌流圧 50~75cmH₂O ではリンパ生成量の増加は比較的緩徐で100~125cmH₂O の圧では急激な増加を示し大体125cmH₂O 以上の圧では再び増加は緩徐となる事を認めた。腸に於いては灌流圧の増加に従い血管内流量に対するリンパ生成量の比は、小となるが、血管流量及びリンパ生成量の増加は略直線状になる。

以上の如き腸並び脾臓に於けるリンパ生成に関する差異を模型実験より推すに、リンパ生成に関与する毛細血管流床の大小及びこれを受ける深部リンパ管系の発達の良否によるものと考えられ、又同時に墨汁注入標本觀察の結果を綜合すれば、脾小体がリンパの生成部位と考えられる。

29. 平賀 顕(広大生理)

呼吸器系の脈管に関する比較生理学的研究

生理的色素灌流法或いは注入法により、水棲動物には牡蠣、蛤(軟体動物、真弁鰓類)、まだこ、こういか(軟体動物、頭足類)、がざみ、えび(節足動物、甲殻類、十脚類)、しやこ(甲殻類、口脚類)、陸棲動物にはまいまい、こうらなめくじ(軟体動物、腹足類)、いもり、はんざき、藁および蛙(脊椎動物、両棲類)、やもり、水亀(脊椎動物、爬虫類)、鳩、雀、家鶏(脊椎動物、鳥類)、海鰐(脊椎動物、哺乳類)等に就いて鰓並びに肺臓の体液流路の分布構造及び其の機能並びに進化の過程を比較生理学的に追求して次の如き結果を得た。

1. 水呼吸をする動物の鰓に於ける体液流路の微細構造は外界の水に露出する如く分布し、単層網型、重層網型等の構造を有し、空気呼吸をする動物の肺臓の体液流路の微細構造は肺臓の内面の空気に露出する如く分布し、単層網型構造を形成する。

2. 開放性血管系の鯉ならびに肺臓の体液流は数個の細胞と細胞の間を流れている。此れは閉鎖性血管系の毛細血管に相当しているものと考えられる。

3. 鯉並びに肺臓の体液流路の微細構造は動物が高等になるにつれ複雑になり、呼吸面に対する裸出面積を増大し、体液流路の口径及び網目の大きさ、網目の密度はより小さくより緻密になる。

4. 鯉並びに肺臓に於ける体液流路に就いて其の網型分布構造について測定した値を表示した。

30. 西田 勇・中山 沃・福井正男 (鳥取大第2生理)

光刺激の外眼筋に及ぼす影響

光を眼に照射すると瞳孔が収縮するが、これと同時に外眼筋即ち動眼神経支配下の上直筋、滑車神経支配下の上斜筋、外転神経支配下の外直筋及び眼球牽引筋の緊張が反射的に増加することをイヌ、ネコを用いて筋電図により証明した。大脳皮質の除去、小脳の剔出、前庭破壊によってもこの反射は消失しなかった。

31. 鳥越弘志 (鳥取第2生理)

味覚閾値(甘味)と血中の銅含有量との関係について

甘味閾値と人体血液中の銅イオンとの関係についてしらべてみた。

甘味閾値の測定には、9点積分法により午前と午後の閾値の変化を求め、それと同時に正中静脈より血液5ccを採血し、血液中の銅イオンを定量した。血液中の銅イオンの定量には血液5ccを硝酸、硫酸、過塩素酸を加えて湿式に灰化し、基礎液(0.5モルNaOH 4.5cc+0.5モルクエン酸4.5cc+0.05%酸性フクシン1cc)に溶解しポーラログラフを用いた。

以上の方法により健康人男子の甘味閾値と血液中銅量の増減をしらべ、推計学的に判定してみると甘味閾値が低くなる時血液中銅イオンは増加していた。このことから血液中銅量の増加は甘味の感受性を鋭敏にすると考えられる。

32. 三好実三 (鳥取大第2生理)

大脳皮質と瞳孔運動について(第1報)

大脳に於ける縮瞳中枢は第19領域であると言わ

れているが(Barris 1936)、また同じ領域に於いてFoesterは散瞳現象を認めている。私はネコの大脳皮質と瞳孔運動との関係についての実験中瞳孔運動はその実験に於ける麻酔条件に依って相違することを知った。即ちChlorpromazine(ウインタミン)を使用することに依り全例に於いて著明な縮瞳現象を認めた。其の縮瞳部位はBarrisの縮瞳中枢に大体一致しているが少し下方に向かって範囲が広い様に思われた。然るに他の麻酔薬例ウレタン、エーテルに於いて該当部附近に於いては縮瞳現象が認められなかった。

又電気ショックのみに依る実験、無麻酔に依って行ったもの、両側頸部交感神経節切除を併用した実験に於いても縮瞳現象は認められなかった。尙他の麻酔薬例について追求中であるが、以上の事実とChlorpromazineの薬理作用より考えて、大脳に於ける縮瞳中枢は第19領域附近であって、Chlorpromazineに依る著明な縮瞳はChlorpromazineの薬理作用即ち特に間脳に於ける交感神経中枢に対しての抑制的効果に依り縮瞳現象が出現し易い状態になるものと推論される。

33. 浜村 寛 (鳥取大第2生理)

坐骨神経刺激による散瞳現象と大脳皮質との関係について

末梢性知覚神経刺激、例えば坐骨神経刺激による散瞳現象は、副交感神経の抑制と交感神経の刺激との両者を介して起きるが、それには副交感神経の抑制作用が与って大きいと云う考え方が強い様である。而してその抑制作用は大脳皮質を経由するものとされているが、私はこの考え方に疑問を持ったので、疼痛性の散瞳現象と大脳皮質との関係を次の実験で試みた。

即ちウレタン麻酔を施したネコを用いた実験で両側交感神経の経路を断ち、例えば両側頸部交感神経を切断し、尙両側上頸神経節を摘出し、更に両側大脳皮質を除去し、然る後一側の坐骨神経切断中枢端に頻数感應電撃を与え、両側性の散瞳現象を確めた。それは大脳皮質除去前の刺激結果に比べると幾分散瞳の度合は弱まるが、大脳皮質除去前と除去後とではそれ程大きいひらきは見られない。

依って一側の坐骨神経を刺激して起きる両側性散瞳現象のうち、副交感神経が抑制されて起きる

ものは大脳皮質を経由しなくても、恐らく視丘以下の中樞を介して、中脳に在る動眼神経核が抑制されて起きるであろうと考える。

34. 山田 守・坂田三弥 (鳥取大第1生理)

神経線維に及ぼす刺激の効果について

単一神経筋標本に種々の持続を持ち、そして基電圧より強い刺激を作用させた際の偽作流発現の状態を実験観察し、続いてインダクトリウムにて神経を刺激する時の刺激の強さ及び其の作用時間の長さによって、1つの刺激で反復する偽作流を生ぜしめることをみた。

此れより条件如何によっては刺激強度の増加による効果は恰かも刺激頻度を増加せる場合と一致することを証した。

35. 山田 守・桃井国忠・山上松義・坂田三弥 (鳥取大第1生理)

血糖に対する一考察

血糖は食餌摂取後30分～1時間にて、最高値に達するが其の機転の1つとして従来小腸よりの消化吸収によるとされている。しかし食餌摂取後30

分～1時間では尚食餌が胃中に停滞しておる時間であり、且つ胃は単に食餌の貯溜所とされている故に糖類の消化吸収によって血糖の上昇をみるとする従来の考え方では此れを説明することは出来ない。

我々は此処に食餌摂取に関連し30分～1時間に血糖が増加する一因子としてホルモン及び神経による作用が関係することを見出した。

36. 山上松義 (鳥取大第1生理)

胸神経後根に存在する胃運動促進線維について

イヌの第7, 8, 9, 10胸神経後根の切断末梢端刺激は幽門括約部の運動促進をひき起すが、あらかじめこの後根を切断して7～26日経過後に末梢端刺激を行えば、これ等の促進効果は認めることができなかった。この実験結果は演者がnicotine, TEAを用いて行った実験成績ともよく一致するものであって、第7, 8, 9, 10胸神経後根に存在する胃運動促進線維は切断することによって変性したと考えられるから脊髄遠心性であると言うことができる。この線維について現在組織学的研究を行っている。

地 方 小 学 会 報

第8回日本生理学会北海道地方会

時 昭和30年12月21日午前9時30分より

所と当番 札幌医科大学西第2講堂 永井寅男

1. 牧之瀬 望・神田嘉愛・森沢峯夫 (札幌医大生理)

蛙筋の融解短縮に及ぼす諸種薬物の作用

蛙 sartorius を急速に凍結し、次いで融解すると、筋は等尺性に比較的速い第1収縮と、それに続く比較的緩徐な第2収縮とからなる二重収縮を示す。筋の興奮性を変化させる物質の此の現象に及ぼす影響から、刺激興奮と収縮との間に何等かの関連を得ようとした。

1) 凍結する前に urethane, chloroform, chloral hydrate, isomital-Na, cyclopan-Na 及び DNP 等を作用させると融解に際して第1収縮が消失する。しかし KCl, MgSO₄, cocain, procain, ATP, curare, barbital 等では此の点に関して変化がない。

2) 此の第1収縮は単なる凍結融解操作上の機械的な機転で発生するものではなく、融解短縮自体の性質と考えねばならない。

3) 上記薬物に依る筋の麻痺と第1収縮の消失とは直接対応せず、この第1収縮と筋の刺激興奮機構とは関連がない様に思われる。

4) 筋の凍結処理方法及びそれに関する従来の成績との差に就いて論じ、更により内部的な機構即ち AM-ATP 系或いは他の筋線維内諸酵素系との関連の上に、此の現象の解明を求めるべきことを示唆した。

2. 丸山俊蔵・林三男・落合 倜 (札幌医大生理)

新鮮蛙筋に対する ATP 作用

蛙縫工筋に対する ATP 作用を検討し、それと

Ach作用とを比較検討した。更にATP液のNa濃度を変えて、その影響を検討した。

1) 蛙縫工筋にATPを作用させると常に一過性の律動性を伴う収縮を来たした。

2) この収縮作用は, vagostigmin で増強され, curare, atropine で著明に抑制された。

3) 之等の作用はAchの作用に極めて類似する。

4) ATP収縮後に、再び直ちに同一ATPを作用させると僅少の収縮を起したが、Ach収縮の場合には、再び同一Achを作用させても収縮は見られなかった。

又ATPはAch作用を増強した。

5) pyrophosphate も亦収縮作用を有するが、ATPと比較して僅少である。

6) ATPのNa濃度を0.06~0.2M迄変えて作用させると、Na濃度が低い程収縮高が大であり、且つNaの濃度が高くなるに従って、弛緩が遅くなる。

7) Ach収縮の場合には、Na濃度に関係なく、すべて最大の収縮を来たした。

8) 以上の成績から、新鮮骨格筋線維に対するATP作用は筋肉内のAM系に直接作用するものでなく、膜機構に作用するものと考えられる。

3. 島村宗夫 (北大第2生理)

低温麻酔における震えの筋電図学的研究

筋電図を用い、低温麻酔の場合における震えの発現機序について検討した。これは当大学奥田外科、平氏と共同で行った。

震えの末梢乃至脊髄起源のものから先ず解明すべく、脊髄後根遮断により Grouping voltage の現われることから、出発して Grouping voltage を示標として、2, 3の実験を行った。

5頭の犬について後根切断について当該前住細胞支配の筋から Grouping voltage の現われるのを追試し、冷却によって後根遮断と同様の結果にならないものかどうか、犬5頭のN. ischiadicusを冷却して実験し、類似の Grouping voltage を認めた。

同様な実験を成人5名に試み、N. ischiadicus, N. ischiadicusを冷却して、M. abductor digiti V. M. tibialis anterior から Grouping voltage を認めたが M. gastrocnemius からは認められなかった。

これらの成績から、末梢神経の冷却により、震え乃至 Grouping voltage が現われるのは、知覚

線維が運動線維より細いというようなことから、早期に冷却遮断をされて後根切断と同様の結果となるものと考えれば説明されるが、実際低温麻酔の過程において、この種の震えが軽微ながら加わり得るものと考えられる。

4. 島村宗夫 (北大第2生理)・川西義男 (北大第3内科)

誘発筋電図H波の個人差と背髄通電の影響

末梢神経に電気刺激を加えて、支配筋からの誘発筋電図により背髄機能をうかがう方法は Magladery らによって行われている。

私共はこの背髄反射性の波形、即ちH波が各筋によって相異なるものか、又個人差のあるものか、更に背髄通電によってH波の現われ方に違いがあるか、などのことを追試をかねて検討した。

方法は脛骨神経、腓骨神経、尺骨神経、橈骨神経に電気刺激を加えて、各々の支配筋である腓腹筋、前脛骨筋、小指外転筋、総指伸筋から誘導増幅して Braun 管オッシロスコープで観察写真記録をとった。

その結果各筋肉からのH波の現れ方では stretch reflex の発達している抗重力伸筋である腓腹筋からは毎回確実に証明された。

他の筋肉においては一部のみに認められた。同時に抗重力伸筋を特に使用する運動選手において差のあるものかどうかは今後に残された問題と思われる。

H波の潜時は平均 27.33msec であった。この潜時と腰椎 I から誘導電極迄の距離との間には、距離の短い者では潜時も短く、距離の長い者では潜時も長いといった相関関係が見られた。

最後に東大田坂教授のやっておられる背髄矩形波通電を健康人4名に30分間行って10分毎にH波閾値の変化を追求したところ、陰極通電では著しい変化は認められなかったが、陽極通電では著明にH波閾値の下降を認めた。実験はまだ中途にあるが、この方法は背髄通電の作用機序ないし効果の判定に応用されうるものと思われる。

5. 玉重三男 (北大理動物生理)・梅沢俊一 (高知大文理生物)

単一筋細胞内外の電気刺激

アカガエルの後肢から無傷に分離した単一筋細

胞に先端口径 1μ 以下の毛管電極を用い、両電極共細胞外；一方を内他方を外；両方共内部に挿入し、電流の方向を変えると云う様な種々の組合せで電気刺激を行い、細胞を介しての興奮系と膜を介しない収縮系の解析を試みた。

正常な標本ではいかなる場合も、膜を外向きに流れる電流密度最大のところで興奮が成立して力学的にも電氣的にも伝播性反応が起き、標本が古くなるか下の如く膜の興奮機能を奪い去ったとき初めて局所性反応が起きた。両内部電極の場合でも、正常状態で筋原形質を刺激するに足る電流ならば膜に作用が及んで伝播性反応を招来してしまう。即ち両電極共膜外に置いた条件と本質的差異はない。

膜の機能を奪い去る目的で、媒液を choline-Ringer 液にしたり、エーテル、クロロフォルム、ウレタン等の麻酔剤を用いたり、等張 KCl 溶液処理や筋細胞を少し空中で乾燥せしめること等によって局所性収縮のみを認め活動電流伝播は消失するに至った (KCl 処理以外は可逆性)。Na-欠除媒液として等張 CaCl_2 液の場合伝播性反応を示し、Na-仮説に反した。麻酔の充分進行しないうちには super-normality を示し、通電時間長ければ反復伝播性反応が起きた。なお麻酔剤細胞内注射によって筋原形質も麻酔作用を受けるものなる事を知った。

以上によって、膜の機能を奪い去り内部電気刺激を行えば陰極部短縮が起り、伝播性ではないが、生きた筋原形質は電流に (長軸方向のもので) 反応するもので、抽出筋蛋白やグリセロール筋等と異った性状と思われる。また正常標本では、細胞膜の機能的存在は除去出来ず、これが有脊椎動物骨骼筋細胞自然の性状と言えよう。

6. 内田 孝 (北大理動物生理)

単一筋細胞の膜電位と負傷電位

微細電極を挿入して細胞膜電位を測る事が近時盛んになっているが、挿入電極先端で特別の界面或いは負傷電位が形成され、真の膜電位測定にならぬとの論議もある。

そこで細長い形状を利用して、アカガエル後肢より無傷に分離した単一筋細胞について、別法により膜電位及び負傷電位測定を工夫した。筋細胞中間部は空気で絶縁し、その両端電極部間に種々

の条件差を与えた。例えば、一方には Ringer 液で正常な膜電位を成立させるが他方の側では異った種々の電解液でそれぞれ異った膜電位或いは膜を破って負傷電位が生ずるように仕掛けた。

ここでこの両極から導いた電位差測定値は電極各部電位差の代数和となるであろう。適当な組合せで実測すれば、例えば下の如く連立方程式を得るから、これを解けば正常膜電位を初め種々の電解液に接した筋細胞の膜電位或いは電解液と筋原形質間の接触電位等を同時に知る事が出来た次第である。

電位差測定には真空管電位計を用い、有害無用の電流が流れないように迅速平衡に意を用いた。次に実測例を示す。

X : 正常膜電位; K : 外液が $M/8$ KCl の時の膜電位; K_0 : 筋原形質と $3M$ KCl との間の接触電位; R : 筋原形質と Ringer 液との間の接触電位即ち負傷電位の絶対値をそれぞれ表す。

$$\begin{cases} X - K_1 = 66 \times (1 \pm 0.1) \text{ mV}, \\ X - K_2 = 84 \times (1 \pm 0.1) \text{ mV}, \\ K_1 - K_2 = 18 \times (1 \pm 0.1) \text{ mV}, \\ K = 0 \text{ mV}. \end{cases} \quad \begin{cases} X = 84 \times (1 \pm 0.1) \text{ mV}, \\ R = 29 \times (1 \pm 0.1) \text{ mV}, \\ K_1 = 18 \times (1 \pm 0.1) \text{ mV}, \\ K_2 = 0 \text{ mV}. \end{cases}$$

このことを微細電極挿入によるものと比較した所、ほぼ同じ値を得た (但し微細電極の場合が約 5% 以内正常膜電位は高い値)。

Ringer 液中の傷面でさえ、特別の電気発生シートと考えるよりは原形質と Ringer 液間の接触電位として扱うべきで、Ringer 液側正で上の如き値のものとする。

7. 久田光彦・玉重三男 (北大理動物生理)

神経-筋接続部について

骨格筋の神経-筋間接続部が興奮伝導時に端板電位と呼ばれる特異な活動電位を示し、この特別な電位変化は、主として神経末端が活動時極めて短時間内に Acetylcholine を放出し、これに対向する筋細胞表面が、特異的に反応して脱分極を起すことによるものであることは、Castillo, Katz 等が、Ach を特にこの部へのみ外部から与えることにより引き起こされる脱分極の状態、又その他、種々の実験結果から明らかにしつつある。しかしこれ迄の実験に用いられた神経-筋標本は、いずれもその神経-筋間接続部の構造が明確に認められたものとは言えず、接続部の所在そのものも、

誘導される電位変化の形状、大きさから逆に判定されたものである。我々は、蛙後肢から単一筋細胞に神経を配した標本をうることに成功しているが、これではこの接続の形態を極めて明瞭に認めることが出来る。神経末端にすくなくとも蛙筋では板状構造を示さず、馴鹿角状に分枝し、先端は袋状の構造に終り、さらにその先には何等複雑な構造を認めることが出来ない。またこの様にして得られた標本の間接刺激、及びクラーレ処理後の直接刺激による筋収縮反応を比較すると、その間に何等本質の相違を認め得ない点から、このような構造を持つ標本が正常の機能を保っていることが確かめられる。なお、新鮮な末梢切断神経及び筋細胞で空気中或いは Ringer-paraffin 油界面で Ephapse を形成せしめることが出来た。

更にこの構造明瞭な標本を用いて神経-筋間接続部の伝導機構について解析するため、接続部の各部分、神経末端、その直下の筋細胞内、および筋正常部から、毛細管電極を用いて、静止及び活動電位を進めているので、中間報告しておく。

8. 横田敏勝 (北大第2生理)

皮膚電気反射の本態に関する研究 (第1報)

皮膚電気反射の本態追求を企図し、電位法を用いて次の諸実験を行った。

1) 反射波形の分析

所謂単純回路、通電法による15例と、直結増巾電位法による4例の反射波形について Fourier 解析を行った。経過をどこまでとるかに問題があるが、これらの波形の周波数帯域は、最大スペクトルの10%迄をとると、0.05~1.00c/sの範囲にあることが判った。この成績並びに種々の時定数の増巾器による同時記録成績から判定して、時定数3秒のCR結合増巾器の使用により著しい波形の歪みはさけられるものとして、以後便宜上これによる記録を原則とした。

2) 圧反射と皮膚電気反射

電位法による皮膚電気反射の検査の場合には、電極、増巾器等々に充分吟味を加え、皮膚に軽微なりとも通電の起らぬことを確める必要があるがこれらの諸点を考慮しつつ、左右手掌及び手背に関電極をつけ、不関電極は局所麻酔をした前腕において、左右同時記録法により、一側々胸部圧迫の電位法による皮膚電気反射に及ぼす影響をみた

が、5例の全例において左右の波形に相違が現われた。即ち圧迫側の振巾が反対側に比し減少したり、反対側が多相性であるのに圧迫側が単相性であるような現象がみられた。

3) 中枢機序の検討

猫の前運動領、視床下部、腰部交感神経節等に電気刺激を加えると、それぞれ肢蹠から皮膚電気反射が現われる事が知られているが、自律神経遮断剤投与により之等の部位刺激による反射の現われ方の変化をみた。その結果として、Megaphenの注射により前運動領及び視床下部の刺激による反射の振巾は、注射量の増加と共に漸減し、次で先ず前運動領の刺激によるものが消失し、その後視床下部のものが消失する。この時期においても腰部交感神経節の刺激による反射は依然としてよく現われる。

9. 横田敏勝・高橋利夫 (北大第2生理)

皮膚電気反射に及ぼす温度の影響

皮膚電気反射検査法の定量的測定法とみられる電位法を用い、精神性発汗、温熱性発汗のそれぞれ代表部位として手掌と手背を選び、反射の中枢及び末梢機構を究明しようとして、室温並びに局所皮膚温を変えた場合について、反射波形の推移を検討した。

実験は成人7~10名について行った。

先ず室温を15°Cから30°Cまで凡そ5°間隔4段階に変えた場合の成績については、手掌、手背反射の潜時には著しい差があり、室温の如何に拘らず手掌の潜時は短く、波形については一般に手掌からは多相性が現われ易く、手背からは、室温が低いと単相性であるが室温の上昇と共に多相性波形が現われた。然るに室温30°Cでは7例中2例において、手背からは多相性が現われているのに手掌波が単相性となる現象がみられた。

次に室温を概ね20°Cに一定に保ち、他側を対照とし一側手掌を加温した。一般に潜時の短縮、単相性から多相性への移行、下向き振れの増強が見られ、対照側もほぼ同様な経過を示した。

手背では10例中2例に当初反射はなく、加温によりその側のみから単相性反射が現われその中1例においてはそれが多相性に移行し、その頃他側からは単相性反射が現われ始めた。温熱性発汗中枢が興奮閾下にあるとみられる室温15°C以下の

場合については目下引続き検討中である。

実験はまだ中途であるが、以上の成績から次のことが言い得ると思われる。

1) 手掌と手背の反射の間にはやはり本質的相異があるものとみられる。

2) 電位法による皮膚電気反射の興奮順位は手掌手背の何れでも無反射、単相性、多相性の順であって、なお多相性の場合興奮の程度に応じて下向き振れ(+)側が次第に増加する。

3) 電位法は、単に振幅の増加のみを指標としている通電法に比較して一層よりどころのある検査方法と云える。

10. 隅田賀周 (北大応用電気)

モルモットの間脳刺激による Recruiting Response について

電気睡眠の機構を明らかにするため、視床の Diffuse Projection System の刺激による睡眠反応と Recruiting Response との関係を明らかにする為の基礎実験をバルビタール麻酔下のモルモットで行った。即ち Recruitment は 4~6 回目の刺激で最高に達し、刺激周波数は 5~17c/s に於いて見られる。

Latency, Peak time, Duration に於いて明らかにその短小を見た。これはモルモットの Thalamo-cortical circuit 及び皮質間脳のニューロン網の単純性を意味する。

又間脳の低周波低電圧 (10サイクル, 10ms パルス) の通電 (30秒) は Recruiting Response を増強するが、周波数を高めると (50~90サイクル) 消失する。

11. 山口恒夫 (北大理動物生理)

ニシン卵膜電位の受精にともなう変化

動物卵の静止膜電位及び受精にともなう膜電位の変化についてはウニ・メダカ等について 2~3 の報告が既にある。しかしながらそれらのものについては電気的測定方法等に誤りがあるのではないかとの疑問もある。そこで私はこの点を特に検討吟味して以下の実験を行った。

即ち成熟ニシン卵に 3M KCl 或いは Ringer 液をつめた先端直径 1μ 以下の微細電極を挿入し細胞内外間電位差を真空管電位計を用い $\pm 0.5\text{mV}$ 以内の精度で測定した。

この結果先ず静止膜電位は細胞内電極につめてある電解質溶液により値が異なるが、いずれも卵内が電気的に負で 3M KCl で約 8mV, Ringer 液では殆んど 0mV に近い。この静止膜電位の差は電解質溶液と細胞質との接触電位の相異と考えられ、これを実験的に補正すると静止膜電位は僅か卵内が電気的に負で實際上 0mV である。

次に静止膜電位は 3M KCl 及び Ringer 液いずれをつめた細胞内電極を用いても受精により卵表層の変化に僅か先行するか、或いは殆んど同時に卵内電位が 2~7mV 低下し約 10 分後胚盤形成にともなう原形質流動の終期に電位は全く元の静止電位の値に復する。しかしこのことは細胞内電極の先端が特に卵表層を流動している原形質におかれた場合だけに限られ、新たに形成された卵黄及び囲卵腔内にある場合は明らかに静止電位以上卵内電位は高くなる。即ち受精卵に於いては卵内構成各部分により電気的性状が全く異り、可逆的な電位変動そのものは原形質の部分の電気化学的な変動に帰せられる事を暗示している。

玉重 (1954) の塩濃度差或いは電位差を単一卵の両半球間に与えて起した人工賦活卵の場合の電位変動も少くとも電気的には正常受精卵と相異が認められない。

12. 草地良作・佐藤秀敬 (北大獣医生理)

脳波の位相差に関する研究

2点同時単極誘導脳波の位相差を厳密な意味で求める為には、交叉相関係数を求める方法に依らなければならない。本川による視察的に位相差分布曲線を求める方法は厳密性を缺くが簡便な方法といえる。然しながら何れの方法も位相推移を追求するためには適していない。演者等は2点同時単極誘導脳波を特性の等しい2増幅器で増幅して Braun 管偏光板の両軸にかけ Lissajous 像を描かせる極めて簡単な方法で位相差の様相を追求する事を試みた。

かかる Lissajous 像を一定時間フィルム上に露光させると一般に楕円像が得られる。その長軸方向により位相差を、又その長軸短軸の比によりその量的関係を推察する事が可能である。本方法により得られた結果と本川の結果とを比較すると極めてよい一致が見られた。露光時間を適当に変えることにより位相推移に追従させることも可能で

あり、厳密性に欠ける点はあるが便利な方法といえる。

13. 小笠原光康・今井大雄 (北大第1生理)

Dextran の代謝に関する研究

1) Dextran の排泄及び体内分布について

2) C^{14} 標識 Dextran について

1944年スエーデンの Ingelman 等によって Dextran を代用血漿として使用されて以来、飛躍的に研究が進められ当教室に於いても昭和25年より Dextran の製造、物理化学的性状、生理作用について研究を進めて来ました。

そこで我々は当教室で作成した異った分子量の Dextran を用いて動物に静脈注射し、体内における分布並びに体外排泄について検討して見ました。又一方 Dextran の代謝について検討するべく C^{14} 標識 Dextran を光合成しました。

注射は 6% Dextran 生理的食塩水で、pH 5.2~7.0, 分子量, 2万, 7万5千, 10万と3種類のものを用い、6時間, 24時間, 48時と測定しました。先ず兎を用い、Dextran 血中濃度、尿排泄と時間的關係、次に白ねずみを用い、Dextran の体内分布と時間的關係について検討した結果、低分子のものは体外排泄が早く従って体内残留も少ない。また高分子のものはそれと逆な傾向が見られました。また一方体内分布について見ますと、内皮細胞系の多い臓器にとりましては他の臓器と異なり、高分子のものに於いては蓄積される傾向が見られた。

次に C^{14} 標識 Dextran はカンナの葉を用いて C^{14} 標識炭酸ガスの中で炭素同化作用をさせ、葉の中に C^{14} 標準糖類を生産し Dextran を合成し high-active な結果が得られた。

14. 太田 豊 (北大第1生理)

老化の生理及びその予防に関する研究 (第7報) (その1) 高血圧患者血漿リボプロテインの口紙電気泳動的研究

老化現象の一般的症候である動脈硬化と、これと密接な関係を持つと考えらる高血圧症の関係を明らかにするため、動脈硬化症を伴う高血圧者(腎, 肝, 糖, ロイマチス, 梅毒を除く) 83名に就き其の血漿の変化を口紙電気泳動法により検査しました。組織液の血管壁内移動の生理と動脈硬化症

の発生機序及び形態より、流血成分の変化特に蛋白質 Lipoprotein が動脈硬化とそれより生ずる初期的な高血圧症と関連する事ははっきり考えられます。実験の結果は血清蛋白では 1) Albumin の減少 2) β γ globulin の増加が著明に出ています。又蛋白質質では、1) 全蛋白と結合していること。2) β γ globulin の部分に特に増量していること。3) 遊離の状態にある Post γ の部分が非常に減少していることが分りました。近次動脈硬化症ではコレステリン問題は血漿中の多寡から血漿中での物理化学的にどんなに変化がおきるかが注目されてきてます。私の実験では他の疾病とちがった独自の变化した成分を示しています。この臨床的研究より動脈硬化症と高血圧症との血漿關係を明らかにして其の予防の鍵を見出したいと考えます。

15. 安曾武夫 (北大応用電研生理) 笠原嘉郎・田中 明・今野哲雄・岡崎照彰・稲場昭徳 (北大第1生理)

出血時に於ける補液の各臓器酸素消費に及ぼす影響について

我々はオキシンググラフに依り、猫の大量出血時に於いて Ringer 氏液, 6% デキストラン液, 人工血液を出血直後, 24時間, 48時間目に夫々注入して組織呼吸に及ぼす影響を調べたところ、出血後 72時間に於ける大脳, 心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 骨髄の酸素消費は、いずれも人工血液注入群は対照群に近く、デキストラン液注入群, Ringer 氏液注入群は前者に比し、酸素消費の多い傾向が見られた。これらの相異は出血のため防禦体制にある生体に注輸された各補液の特性によるものと思われる。

16. 細谷精一・鈴木 実・松本英人・天田明男 (北大獣医生理)

脳内のカリウム, ナトリウム

実験意図 脳生理学研究の手段の一端として、Hodgkin の Sodium Theory を取上げ生化学的方面から之を追及してみることにした。Hodgkin 以来、Neuron の興奮に際して細胞外液から Na がノイロン中に侵入し、Kalium が出て行くことが証明されて居る。この際の移動は殆んど瞬間的な短時間で行われるが、正常への復帰には数秒以上

の長時間を要するので、若しノイロンを連続刺激した場合はノイロン内外の両イオン量は正常より異なるものと考えられる。この事から私達は中枢神経に於けるある部位の、ある瞬間の Kalium, Na 量の変化を知ることにより、その瞬間直接のその部位に於ける興奮状態を知ろうと思ひ、この実験を企図した。

実験方法 材料は猫の大腦皮質、処置および測定法は猫を頸部で切断し直ちに腦を剔出、大腦の一定部位から左右対称に各十数カ所、皮質を取出しこれを Kjeldahl 酸化コルベンにより HNO_3 , H_2O_2 で湿性灰化し、それを Beckmaun の Flame Photometer により Kalium, Na 量を測定した。

実験成績 現在までの成績から 1) 個体が異なれば同一部位でも異なること。2) また同一個体に於いても左右の部位の値が異なる例のあること。と言える。このことから脳内各部の K, Na 量は一定不変なものではなく、常に変動するものであること、そしてこの変動がその部位の興奮と非興奮との関連に於いて考慮されるべきものであり、従って K, Na 量を知ることにより死の瞬間直前の興奮、非興奮部位を知ることが出来るのではな

いかと考えられます。このことは即ち種々の条件を与えた後、K, Na 量を測定し、脳内必要部位の興奮、非興奮を知ることにより、脳生理学上の或る種の問題を解明して行けるのではないかと考えられる。

17. 亀山泰久 (北大獣医生理)

生長促進因子について

メンキンが Growth promoting factor と名付けた物質を酵母の醗酵作用を応用して追求せんとし、酵素液に乾燥酵母を $M/15 \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ に浸出せるもの、基質液には蔗糖を $M/15 \text{ KH}_2\text{PO}_4$ に 5% に溶解したものをを用い、種々の血清の醗酵促進作用について実験を行った。その結果、

1) 正常人、馬、及び家兎血清に醗酵促進作用があり。

2) 病的状態にはその増強の傾向を示す。

3) 正常馬血清の透析外液に於いてこの作用を見、 100°C 1時間の加温でも不変である。

但し正常時の醗酵促進物質と病的時のそれと同一のものか否か、又それらの相違、生体内での役割等は今後研究さるべき問題である。

日本生理学会々費納入のお願い

昭和32年度会費 (第19巻) 1,000 円お払込みをお願い致します。

本号に振替用紙を挿入しておきましたから御利用下さい。

なお教室所属の方は教室員をまとめてお払込みいただければ好都合であります。又昨31

年度会費未納の方は何卒至急お納め下さるよう重ねてお願い致します。

東京都文京区本富士町 (本郷局区内)

東京大学医学部生理学教室

日本生理学会

振替口座 東京 86430 番

日本生理学雑誌投稿規定

1. 原稿は新仮名遣い平仮名交りの横書とする。句読及び括弧は1字に相当する空間に書かれない。
2. 原稿は日本文の他に、Typewriter 紙に1枚以内の欧文の Summary を附せられたい。
3. 原著は当分の内、刷上り8page以内とし、印刷費用は最初の2pageを本会で、それ以上及び挿図、表は著者負担とする。
4. 学会総会並びに地方部会の講演抄録は1題につき800字以内とし、掲載料は頂かない。学会開催の当番幹事に於いて取りまとめて編集部へ送られたい。
5. 原著原稿の第1枚にはその上半分をあげ、下半分に表題、欧文表題、著者名及び同ローマ字、所属、国際十進分類による番号、表及び挿図の数等を次の形式に従って書き、上半部の余白には別刷請求部数等の編集者への注意事項等を附記せられたい。

(原著) (図3, 表2) (別刷80部)

筋注法及び伸縮注法による骨格筋の

収縮性について 612. 741. 3

Method of Intramuscular Injection

to Test the So-called Salt

Contraction of Skeletal Muscle of Frog

足立千鶴子 (ADACHI-Chizuko)*

* 財団法人林研究所

(抄録)

戸塚武彦・上田篤次郎 (日本医大生理) 赤血球

沈降速度に関する研究

1. 液柱の高さを変化させた場合の……

学会総会並びに地方小学会の抄録は原稿用紙の第1行目に抄録者名、括弧に入れて所属、第2行目に演題、第3行目から抄録文を上形式に従って書かれたい。学会抄録には挿図は遠慮せられたい。

6. 原稿には挿図、または表を組み込むべき場所を指定し、図の説明の文がある時には本文と同じ原稿用紙に書き、その場所に挿入せられたい。
7. 原稿の項目分けは第一章、第一節等とすることなく、次の順に従って分けられたい。
I. …… A. …… 1. …… a. ……
8. 脚註はなるべく遠慮せられたい。
9. 挿図原稿は別紙に認め、必ず第何図の番号を附せられたい。亜鉛凸版の原稿は白紙又は青色方眼紙に墨汁を以って明瞭に書かれたい。図中の文字、数字は可及的に縮小した場合に読まれる程度の大きさに墨汁で書かれたい。図版の縮小率は編集部にて委せられたい。写真は特に明瞭のものに限る。
10. 外国文は明瞭なローマ字で Typewriter で書く事。文中の外国語、固有名詞はローマ字で書かれたい。外来語、動植物学名等は片仮名で書かれたい。[例] スペクトル、ガラス、トノサマガエル
11. 数詞はアラビア数字を用いる。[例] 第1図, 100m, 3つの [例外] 一般に数百の, 500万 (なるべくは 5×10^6 とせられたい)。
12. 引用文献は末尾文献表の番号を片括弧を附して右上肩に附せられたい。
[例] (Hofmann, F. B.³⁾) …… F. B. Hofmann³⁾ によれば …… と云う報告がある³⁾
13. 末尾文献表は論文に引用せられたものに限る。孫引である場合にはその事も明記せられたい。文献番号、著者氏名、括弧に入れて年号、成るべく論文表題、雑誌名、巻数 (数字の下に2本線)、頁数、単行本の場合は発行所等の順に、次の例に従って書かれたい。文献表の配列は論文に出現した順か、又は著者名の A, B, C 順に整理して番号を附し、之を本文とよく照合せられたい。欧文の文献は必ず Typewriter で書き、2人以上の著者名の頭文字の位置は下の例に倣って書かれたい。

[例] 文献

- 1) Bailey, P. and F. Bremer (1921) Experimental diabetes insipidus. Arch. int. Med. 28, 773
- 2) Freund, H. (1922) Über Wärmeregulation und Fieber. Erg. inn. Med. 22, 77
- 3) Lenti, C. (1937) Evaporazione temperatura cutanea durante il lavoro. Arch. di. Fisiol. 37, 326
- 4) Pieron, H. (1931) Le Problème Physiologique Sommeil. Paris: Masson et. Cie.
- 5) 正路倫之助・小菅武夫・川畑愛浩・藤本富太郎 (1939) 満洲に於ける冬期の気候に対する人体の適応力 日本生理学 3, 80
- 6) Sueoka, S. (1931) Experimentelle Untersuchungen über das Wärmeregulationszentrum. Jap. J. med. Sci. III. Biophysics 2, 91