

日本生理誌・第21巻9号・昭和34年9月1日発行（毎月1日発行）
〔昭和27年5月6日 第3種郵便物認可〕

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

第 21 卷 第 9 号

Vol. 21 No. 9

昭和34年9月1日発行

September 1959

綜 説

Yngve Zotterman : The Peripheral Nervous Mechanism of Pain ; A Brief Review.....971

原 著

- 小 谷 覚 : 肋間筋の脊髓反射 977
- 吉 見 健 幹 : 尿中食塩排泄の週期性に就いて 981
- 吉 見 健 幹 : 水利尿時のアンモン排泄増加に就いて 987
- 桜 井 潔 : イヌの心室筋細胞電位に及ぼすキニヂンの作用 990
- 横 田 力 : 抗コリン剤の側脳室注入時に見られる現象と脳波について 999
- 榎 泰 義 : 白鼠の全血酸素解離曲線とこれに及ぼす高度低圧の影響について 1013

地 方 小 学 会 報

第18回日本生理学会近畿談話会（つづき）.....1025

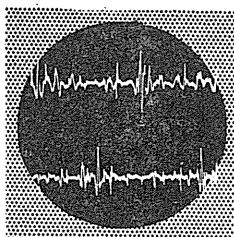
附 : 佐武安太郎教授略歴

佐武安太郎先生を憶う ; 和田正男

日 本 生 理 学 会

Physiological Society of Japan

新製品



筋電計 テープレコーダー付

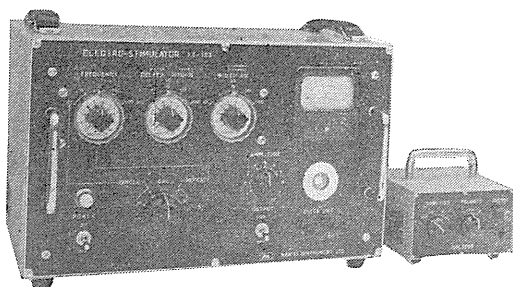
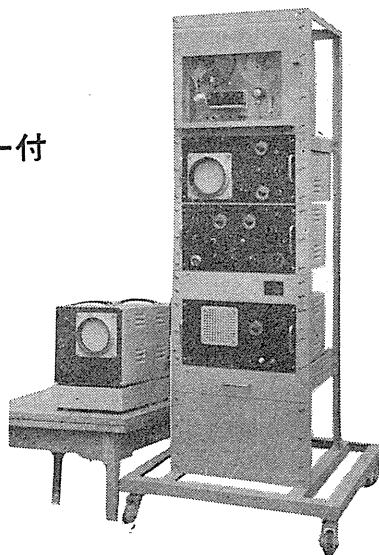
筋電図のほか脳波、心電図などの生体電気現象を2組同時に観測と写真撮影ができる——

筋電図の2現象を同時にテープレコーダーで録音できる——

スタートストップ方式のトリガー掃引回路を使用しているので

- ・刺激装置などの外部同期信号と掃引のスタート時間の遅れがない
- ・単掃引撮影のときフィルム面かぶらず鮮明に写真がとれる

掃引速度は0.1ms/cm～1sec/cmの直読目盛方式



新製品 電気刺激装置

ES-103型

—— 生理実験に 誘発筋電図等による臨床検査に ——

- ・単・複パルスと単発・反覆はツマミ一つで切換えられる
- ・マジックアイを併用して出力を監視できる
- ・波形は正確・安定
- ・アイソレーターを採用してアーチファクトの防止と取扱容易を考慮
- ・周波数の混乱防止機構を備えている

主要製品

脳波計・脳波分析装置
万能記録装置・筋電計
ブラウン管連続撮影装置
麻酔監視装置・電気刺激装置・電気衝撃治療器・光刺激装置・インク書きオシログラフ・電磁オシログラフ・直流増巾器

三栄測器株式会社

本社 東京都新宿区柏木 1-95 TEL (37) 7117-8 8114-5
工場 武蔵野市吉祥寺 1635 TEL (022) 4941・7825



佐武安太郎教授 略歴

- | | | | |
|--------------------|----------------------------|--------------------|---------------------------------|
| 1884 (明治17) 9. 19 | 和歌山県田辺町 (現在田辺市) に
生る | 1928 (昭和 3) 11. 30 | 東北帝国大学医学部長 |
| 1905 (明治38) 7. 4 | 第三高等学校第三部 (京都) 卒業 | 1929 (昭和 4) 7. 17 | 欧米に出張, 国際生理学会 (米国
ボストン市) に出席 |
| 1909 (明治42) 11. 13 | 京都帝国大学京都医科大学卒業 | 12. 18 | 帰任 |
| 11. 26 | 同医科大学助手 | 1944 (昭和19) 3. 31 | 東北帝国大学医学部長 |
| 1910 (明治43) 9. 20 | 京都府立医学専門学校教諭 | 1946 (昭和21) 2. 12 | 東北帝国大学総長 |
| 12. 10 | 生理学専攻のため独, 英, 露三国
に留学 | 1949 (昭和24) 3. 31 | 退官 |
| 1914 (大正 3) 3. 23 | 帰国 | 1950 (昭和25) 4. 1 | 東北大学名誉教授 |
| 12. 24 | 医学博士 | 10. 6 | 日本学士院会員 |
| 1915 (大正 4) 11. 5 | 東北帝国大学医科大学教授
生理学第一講座を担任 | 1959 (昭和34) 2. 14 | 仙台市の自宅に於いて逝去 |
| | | 3. 5 | 位一級を進められ正三位勲一等,
銀杯下賜 |

佐武安太郎先生を憶う

佐武安太郎先生は紀州の生れで、父は鈴木安右工門氏母は松枝夫人である。長男であったが、4歳の時に父方の祖父医佐武松洞氏の養子となられた。小学と中学の課程は郷里で終えられた。第三高等学校を経て京都帝国大学医科大学を卒業されるとすぐ医化学教室に入って荒木寅三郎教授に師事された。翌年には京都府立医学専門学校教諭となられ、生理学専攻のため欧洲に留学された。

3年余の留学期間中先生は Verworn, Hering, Pavlov 及び Sherrington の四教授に師事された。帰朝の翌年31歳で東北帝国大学医科大学に生理学教授として迎えられた。それ以来同大学総長に就任されるまでの30年間は生理学第一講座を担当され、研究は植物性機能に関する生理学の全般に亘っている。中でも、研究生活の大部分をかけられたのは副腎アドレナリン分泌に関する研究である。門下生を指導して出来た研究論文は350篇を超え、そのうち325篇の殆んど総べてが英文で東北ジャーナル(Tohoku J. Exper. Med.)に掲載されていて、その三分の二以上がアドレナリン分泌に関するものである。研究論文の大多数が門下生の名で発表されたのは先生が常々 Carl Ludwig 及び荒木先生に私淑して居られた現われと思われる。

先生がアドレナリン分泌の研究を始められた動機は Leipzig 大学生理学教室から発表された Negrin と Brücke の論文に興味をもれた事である。これは副腎の透明標本を作ってクローム親和性を観察したものであった。当時アドレナリン分泌を研究していた人に Cannon, Stewart, Tournade, Houssay 等がいる。しかし、アドレナリン分泌を数量的に測定する方法は Stewart と Rogoff の cava pocket 法だけであった。この方法では、動物を麻酔し、開腹し、腎静脈や他の主要な血管を結紮しなければならぬので、短時間しか観察が出来ない欠点があった。動物を興奮させたり、麻酔をかけるだけでアドレナリン分泌が変るのでこの分泌の実体を掴むことは当時はなかなか難しい問題であった。しかし、犬を麻酔しないで、縛らずに、しかも痛がらせないで、副腎静脈血を集める方法を先生が考案され、第4回日本生理学会(東京、1926)でその手技を供覧され、同年、菅原・渡辺との共著として東北ジャーナルに発表された。この方法の中で脊髄後根を切る手術は Sherrington 教授から習得されたものであり、自然に近い状態で観察する態度に Pavlov 教授の影響が見られる。先生は犬の手術が驚くほど上手であった。Pavlov の小胃その他の困難な手術を初めて我国に紹介された。

先生独得の方法を用いて、安静時のアドレナリン分泌度を測定し、また種々の刺激や条件で分泌度が刻々変化する模様を数量的に知ることが出来るようになった。疾走中の犬の分泌度さえもこの方法で初めて測定出来たわけである。更に、種々の条件の下で分泌度と血圧、血糖、体温やその他の症状との関係を知ることが出来るようになり、アドレナリンの合目的性が明らかにされた。東北大学総長を辞められた後に研究の結果を集大成され、*Secretion of adrenaline and sympathins* と題して東北ジ

ャーナルの supplement として(1954)、また南山堂から単行書として出された(1955)。これは幾度か持病の心臓病の発作に中断され乍らも遂に完成されたものである。

副腎髓質の分泌物にはアドレナリン以外に、今日ノルアドレナリンとして知られている物質があることは既に実験の結果から予言されたところであった。しかし、実測したアドレナリン分泌度の数値は信頼するに足るものとして多くの文献や著書に引用されている。要するにアドレナリン分泌の実体が先生によって初めて明らかにされたと言っても過言ではなく、その意味で生理学史上に大きな足跡を遺されたわけである。

先生は地味で真面目な研究者であった。研究に対して示された態度はまことに厳しかったが、門下性に対しては温情溢れる許りであった。いかにも Ludwig の面影を髣髴させるものがあった。先生の優しい人柄は Cannon 教授の自伝 *The way of an investigator* (1945) にも興味深く描かれている。

文科への志望を断念して医科に進まれたと云う先生は論語にある視其所以 觀其所由 案其所安の句を愛誦され、これを研究の上にも実行された。先生は人一倍烈しい熱情を以て、学問に対すると同様に、国を愛された。第二次大戦が始まった頃敗戦を予知された先生は戦勝を喜ぶ人々に背を向けて戦争を早急に止める可きことを説いて居られた。何事によらず先生の見通しのよいことは無類であった。これも適確な情勢判断を常に心掛けて居られたからである。先生が話好きで知られていたのもこれと関連があったものと察せられる。新大学院制度によって我国の基礎医学のみならず医学全般の発展が益々後れることを最初から心配して居られた先生でもあった。

戦後の最も混乱した時代に東北大学総長に推された先生は、占領下に於いて或時は激しく抵抗してまで大学の自治をよく守り通された功績は、農学部創設に示された力働と共に忘れることが出来ない。

先生は30年に亘って東北ジャーナルの編集者でもあった。この種の刊行物は従来寄贈を建前とされているにも拘わらず、東北ジャーナルは戦前から500種に近い海外の定期刊行物と交換されている。この発展も先生の卓見と指導によるところが極めて大きい。医学図書館の発展にも尽された。独逸書の値下問題にも活躍されたことがある(学士会報、1936)。

大正3年先生が外国留学から帰られると間もなく陽夫人を信州の和田家から迎えて、二男四女を得られ、家庭的にも恵まれた先生であった。親孝行であった先生は、師に対する尊敬の心も極めて厚かった。臨終の間際に Pavlov の名を呼ばれたそうである。

先生急逝の報は先生を識っている人達を驚かせ悲しませた。病理解剖の結果心臓の動脈硬化は予想外にひどかった。

仙台市の西北部の景勝の地霊園の丘の上に、在りし日の先生の遺徳を偲ぶに相応しい墓碑が近く建てられることになっている。

和田正男

綜 説

The Peripheral Nervous Mechanism of Pain ; A Brief Review. 612. 884

By

YNGVE Zotterman*

Pain has always had a peculiar position in sensory physiology because it may be elicited by most different kinds of stimulus. This has been the basis for long discussion as to whether pain should be considered a special sense i. e. whether it is subserved by specific nerve endings and mediated by specific afferent fibres. The old intensity theory—that pain can be produced by stimulation of any sensory nerve when the strength of stimulation exceeds a certain level of intensity—still had its supporters among physiologists as late as in the nineteen-forties. This was in spite of the new development brought about by Adrian's introduction of modern electronics into sensory nerve physiology in the nineteen-twenties: this had opened up a new field for the direct study of activity within the nervous system by providing the means of recording the electrical response of single sensory fibres to physiological stimuli. After our first successful recordings of impulses in single afferent fibres from frog's muscle and from cutaneous fibres in the cat, in Adrian's laboratory in Cambridge in 1925-26, there were good reasons to expect that the pain problem would be easily solved, at least as far as the specificity of the fibres was concerned. For a variety of reasons, however, this did not prove to be true.

I led off from the plantar nerves running to the pads of the cat, applying burning stimulation; but although these nerve preparations produced very nice spike when the pads were touched, the burning stimulation elicited no sign of electrical response from the nerve.

Adrian observed small action potentials when applying any kind of noxious stimulus, such as pinching, to the frog's skin (Adrian, 1931 a). In the following year I was able to confirm Adrian's observation on the frog's cutaneous nerves, having now replaced the capillary electrometer with a homemade iron tongue oscillograph, similar in principle to that constructed by Matthews (1929) which proved so useful in this field of research. Even after this refinement of technique, however, I was not able to record any corresponding slow potentials in nerves from warm-blooded animals in response to burning stimuli.

When in 1926-27 I had the privilege to work with Sir Thomas Lewis in researches on the reactions of the skin vessels, experiments were made in which the blood-flow to my arm was arrested for up to 40 minutes. In these experiments, I often experienced motor paralysis and a gradually induced differential loss of skin sensations and also the tingling sensations following upon the restoration of blood-flow.

* Department of Physiology, Veterinärhögskolan, Stockholm 51

While the blood-flow to the arm was arrested I tested the threshold to touch with von Frey's stimulating hairs, which produced deformation of the skin. From Table I we see how the thresholds increased. After 20 minutes of compression it was found that the hair required to elicit any reaction from the subject exerted a pressure of about ten times the pressure before compression. Now the interesting point was that the subjects spontaneously remarked that they now felt a pricking like that produced by applying a needle.

It could also be observed that the pricking sensation was delayed and was followed by a lasting irradiating and unpleasant after-sensation.

Thunberg (1901) in his well-known lamella experiments made a thorough investigation of the double pain sensation, showing that

Table I.

Pressure¹ of hairs required for reaction during cuff experiment.

Subject	Before compression	Minutes of compression			
		5	10	15	20 25
G.H.	0.2	1.1	1.1		2.2 ²
H.C.	0.2	0.3	1.1		2.2 ²
B.H.	0.3	0.4		1.1	2.3 ²
C.F.	1.1	1.1			3.5 ²
P.T.	0.6	1.1			3.1 ²
E.C.	0.3		0.3		3.1 ²
H.L.	0.2		0.2		1.1 3.2 ²
T.B.	0.2		0.2		1.6 3.1 ²
G.N.	0.2		0.2	0.4 1.1	2.2 ²
B.Z.	0.2			1.1	2.3 ²

From table I will be seen that there is generally a slow creep upwards of the threshold for the hairs from about 8 minutes. This, I would believe, indicates that the "touch" or "pressure" fibres supplying the area tested are not all blocked at the same moment. Thus the fibre of the touch spot tested may in one case be blocked earlier than in another. When a stiffer hair is applied a neighbour touch or pressure receptor will be excited. During this time numbness proceeds towards complete failure of touch or pressure reports when all these fibres have become blocked.

The algesic threshold was constant or slightly lowered, 10-20%, during the compression.

Table II.

Thunberg	"First prick"	"Second prick"
	R. T. in sec.	R. T. in sec.
Lam. nr. 100.....	0.4	1.3
Lam. nr. 30.....	—	1.2
Needle 1.75 gr.....	0.21 ("touch")	1.09
Needle 5 gr.....	0.18	1.14
Y. Z.		
Period of compr.		
I.....	0.23	
II.....		0.40
III.....		1.43

Remarks : Thunberg's lamella experiments, see Thunberg 1901 p. 412
Thunberg's needle experiments, see Thunberg 1901 p. 428

the two phases are characterized by a very great difference in reaction time. He found the same when using a fine needle as stimulus. Thunberg conceived that the first prick reaction was due to direct stimulation of the nerve fibre while the second was due to stimulation of its receptor, which would possess along latency of excitation. Later, in 1905, he suggested that between the application of the stimulus and the discharge of the end-organ another process was interposed. This conception was shared by v. Frey (1922). In Table II Thunberg's reaction times are compared with my values of 1933 and it will be seen that there is a remarkable agreement, especially between Thunberg's "second prick" values and those observed by me at the end of the cuff experiment.

The "second" pain was described by my subjects as "stinging", which suggested to me that it involved a special mechanism more resistant to the action of compression than the fibres concerned in the "first" pain. Further I found that a rough calculation of the rate of conduction in the afferent fibres involved did not fall below 0.5m/sec., which is in remarkable agreement with the conduction rate of the slow C-fibres observed in mammalian nerves by Gasser and Erlanger.

I was, however, not the first to suggest that the delayed pain (Thunberg's "second pain") was due to the activity of fibres other than those responsible for the "first pain" sensation. It was the psychologist Alrutz, Thunberg's contemporary at Uppsala, who first made this suggestion in 1901. The irradiating and stinging character of the delayed pain in contrast to the well-localized "first pricking pain sensation", led Alrutz to assume that different fibres of different specific energies were concerned in these two phenomena. At that time there were no direct data concerning the rate of conduction of afferent fibres.

My belief that C-fibres played an important rôle in producing nociceptive reactions was substantially strengthened by experiments carried out by Clark, Hughes and Gasser (1936). They found that electric stimulation of the cat's saphenous nerve induced large effects upon respiration and blood pressure when all its A and B fibres had been blocked by asphyxia or pressure but the C fibres were still conducting. In fact the reflex effects were greater than with the A and B fibres intact.

Lewis and Pochin (1938) also performed reaction time studies in man during differential anaesthesia and advanced the same interpretation as provided by me in 1933.

Thus in the middle of the nineteen-thirties the evidence collected from various sources clearly indicated that pain is mediated by fibres of smaller diameters and thus slower conduction rate than the fast nerve fibres stimulated by mechanical stimulation of the skin. A foundation for this view had indeed been laid by the classical experiments of Ranson and Billingsley (1916), who demonstrated that after section of the small fibres in the lateral division of a dorsal root stimu-

lation of the remaining fibres failed to elicit any nociceptive reflexes.

In 1933 Blair and Erlanger demonstrated that the recorded spike heights of axone potentials from a phalangeal nerve preparation of the frog varied as their rate of conduction. On the assumption that the intrinsic potential is independent of the fibre size, the relative amplitudes of the spike potentials led off from a nerve trunk should vary with the diameters of the axones. By splitting the nerve up into tiny strands or by dissecting very thin peripheral branches it should thus be possible to increase the amplitude of the recorded spikes quite considerably. In doing so the resistance of the preparation increases and therewith also the noise level, but the spikes increase in proportion to the resistance while the noise increases only with the square root of the resistance. Thus we have a narrow margin which should enable us to record the impulses even in very small fibres in a slender nerve preparation.

The investigation of the lingual nerve and also the central part of the chorda tympani nerve formed a particularly good starting point, as the lingual nerve mediates a large variety of qualities, and could thus be expected to contain fibres subserving touch, pressure and thermal sensations, and also taste and pain. As the taste fibres were known to run in the chorda tympani, their electrical response to the application of sapid solutions was recorded from the central part of this nerve, and was found to consist of spikes of relatively small amplitude (Zotterman, 1935). This suggested that they were produced by nerve fibres of diameter about one fifth of that of the largest fibres responding to touch. Oscillographic examination showed that the chorda tympani contained very few fibres

responding to mechanical stimulation of the tongue, and histological examination of the nerve revealed that the vast majority of fibres were delta fibres with a diameter below 3μ and that there were only very few fibres of diameter $7-10\mu$.

A thorough analysis could now be made of the recorded electrical response of fine strands of the cat's lingual nerve to cooling, warming and burning the tongue. This revealed that these three modes of stimulation elicit specific action potentials which although they all derived from fibres of the delta group could often nevertheless be distinguished from each other by slight differences in spike height and configuration (see Fig. 1 Zotterman, 1936). As will be seen from these records, small and apparently rather slow delta fibres are brought into activity as soon as the temperature of the tongue is raised above a critical value (45°C) or when the strength of the mechanical stimulus is brought to a suitable level for eliciting nociceptive reactions. Thus it became obvious that pain is mediated by delta fibres in the lingual nerve; and this was in good agreement with the data from the saphenous nerve of the cat provided by Heinbecker, Bishop and O'Leary (1933), quoted above.

Some animal experiments by Mrs. M. W. Gerard (1923) in Chicago had suggested that trigeminal pain was selectively conducted in the bulbospinal trigeminal tract. A subsequent fibre analysis of this tract (see Fig. 1), together with a critical examination of clinical cases with differential anaesthesia of the face—the so-called Wallenberg's syndrome—very much strengthened this idea; and in 1937 Sjöqvist performed his first trigeminal tractotomies. In typical cases division of the bulbo-spinal

IV. Bulbospinal tract.

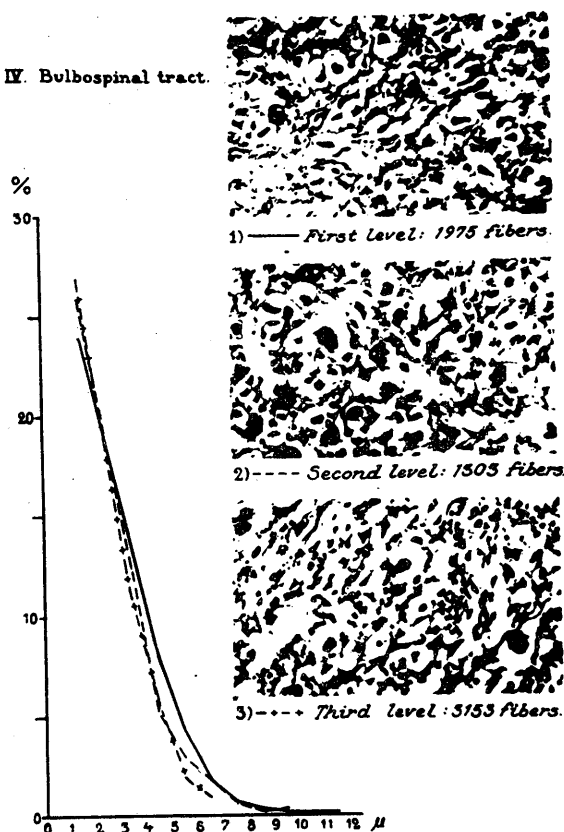


Fig. 1.

Microphotos of bulbospinal tract at different levels and diagram showing distribution of fibre diameters.

trigeminal tract, to a level corresponding to the boundary between the caudal two-thirds of the inferior olive, suffices to bring about complete analgesia and thermal anaesthesia in the entire homolateral trigeminal area.

In 1939 Pfaffmann, working in Adrian's laboratory on afferent fibres from teeth, demonstrated that noxious agents such as extremes of temperature or fractures of the tooth gave rise to impulses of low spike height conducted at a calculated velocity of one-third to one-fifth of that for impulses normally initiated by mechanical stimulation.

Towards the end of the nineteen-thirties I was engaged in studying the fibre response

pattern of the saphenous nerve of the cat. By splitting the nerve up into very tiny strands, or still better by dissecting very thin peripheral branches, it was possible to increase the signal-to-noise ratio so much that even the spikes from very thin fibres could be recorded.

To my mind the fact that delta and C potentials were elicited by very slight deformations of the hairs and skin provided evidence that tickling* and itching sensations or reactions are elicited through the activity of thin afferent fibres.

It was thus obvious from these studies that the sensations generally spoken of as touch cannot be due to a simple mechanism. This is also in good agreement with subjective experience in that touch produces different sensations in different parts of the skin, and that quantitative changes in the strength of a mechanical stimulus produce very definite qualitative changes in sensation, indicating different nervous mechanisms (Zotterman, 1939 b). It was now evident that the delta group of afferent fibres were brought into activity not only by noxious stimuli but also by touch and by thermal stimulation, cooling and warming of the skin.

Later a very important contribution to the study of cutaneous sensory fibres was made by Maruhashi, Mizuguchi and Tasaki (1952). They skillfully isolated sensory fibres from cutaneous nerve in the cat and could thus correlate mode of stimulation, diameter of the fibre and the area of its receptive field in the skin. Their result is summarized in Table III.

Their fast group of nociceptive fibres seem to be of a somewhat larger diameter than

*It must be noted here that my use of the word tickle covers the sensation which is described by Shelley as itch.

Table III.

Classification of cat's cutaneous sensory units.

Type	Fibre-diameter (μ)	Receptive field	No. of units examined
Touch (phasic)	8-14	1-2 spots	12
Pressure (tonic)	3-5	Spot-like	2
Large nociceptive	8-11	4-50 mm ²	8
Small nociceptive	3-5.5	2-4 mm ²	5
Cold	1.5-3	Spot-like (below 5mm ²)	9
Wide-receptive	2-5	1500-4000 mm ²	19
Hair	6-12	100-500 mm ²	7
Subcutaneous	6-10	—	3
Scratch	8-10	Below 150 mm ²	2
Unmyelinated	—	—	—

From Maruhashi, Mizuguchi and Tasaki. (1952)
J. Physiol. **117**, 129

the 1st pain fibres responding to pin pricks which I described in 1939, but otherwise their findings are in remarkably good agreement with our earlier observations and calculated values. They also confirmed my observation that stroking the skin sets up after-discharges in the unmyelinated fibres, which fibres also responded to heating the skin. Dodt (1954), studying the specific pain fibres in the lingual nerve of the cat which were excited when the temperature of the tongue was raised above 47°C, calculated their diameters to be 3-7 μ . In contrast to the specific thermal fibres, these fibres were also discharged by strong mechanical stimuli.

It was thus obvious that pain was subserved by delta and C fibres. The very large number of small myelinated and unmyelinated afferent fibres in the cutaneous nerves indicated of course that these fibres must be of paramount importance to our sensory life. The question remained whether, as Gasser put it in 1943, other modalities such as touch and thermal sensations were also subserved by C fibres. Now C spikes in addition to delta spikes were observed by me in response to a tickling stimulation of the cat's skin. This observation

would support the possibility mentioned by Gasser if we accept tickling as a different modality from pain, as it was originally conceived to be by Alrutz (1901).

Whether C fibres also respond to moderate cooling and warming was not elucidated in our more recent investigations on thermal fibres, because our experiments were made in the lingual area where afferent C fibres do not exist (Zotterman, 1959). But recently great advances in the methods of studying C fibre activity have been made by Prof. Douglas, Dr. Ritchie and by Dr. Iggo, and their results will be reported elsewhere.

References

- 1) Adrian, E. D. (1931 a) Proc. of Royal Soc. B., **106**, 596
- 2) Adrian, E. D. (1931 b) J. Physiol., **72**, 132
- 3) Alrutz, S. (1901) Undersökningar över smärtsinnet. Uppsala Univ. Arsbok 91
- 4) Blair, E. A., and Erlanger, J. (1933). Am. J. Physiol., **106**, 524
- 5) Blix, M. (1882) Uppsala läkareförel. Förh., **18**, 87
- 6) Blix, M. (1884) Ztschr. Biol., **20**, 141
- 7) Clark, D., Hughes, J., and Gasser, H. S. (1935) Am. J. Physiol., **114**, 69
- 8) Dodt, E. (1954) Acta Physiol. Scand., **31**, 83
- 9) Erlanger, J., Gasser, H. S., and Bishop, G. H. (1924) Am. J. Physiol., **70**, 624
- 10) Foerster, O., and Gagel, O. (1932) Z. ges. Neurol. Psychiat., **138**, 1
- 11) v. Frey, M. (1922) Zeitschr. Biol., **76**, 1
- 12) Gasser, H. S., and Erlanger, J. (1929) Am. J. Physiol., **88**, 581
- 13) Gasser, H. S. (1943). In "Pain", chapter III. Pain-producing impulses in peripheral nerves. The Williams & Williams Co. Baltimore 1943
- 14) Gerard, M. W. (1923) A. M. A. Arch. Neurol. & Psychiat., **9**, 306
- 15) Gernandt, B., and Zotterman, Y. (1946) Acta Physiol. Scand., **11**, 248
- 16) Häggqvist, G. (1936) Zeitschr. mikrosk. -und Forsch., **39**, 3
- 17) Heinbecker, P., Bishop, G. H., and O'Leary, J. (1933) Arch. Neurol. & Psychiatr., **29**, 771
- 18) Johnson, J. B., and Llewellyn, F. B. (1935) Bell Syst. Techn. J., **15**, 85
- 19) Lewis, T., and Pochin, E. E. (1938) Clin. Sc., **3**, 67
- 20) Maruhashi, J., Mizuguchi, K., and Tasaki, I. (1952) J. Physiol., **117**, 129
- 21) Matthews, B. H. C. (1928) J. Physiol., **65**, 226
- 22) Müller, J.: Ueber die phantastischen Gesichterscheinungen. Eine physiologische Untersuchung mit einer physiologischen Urkunde des Aristoteles über den Traum, den Philosophen und Aerzten gewidmet. (1826) Coblenz, bei Jacob Hölscher. **X**, 117
- 23) Pfaffmann, C. (1939) J. Physiol., **97**, 207
- 24) Pochin, E. E. (1938) Clin. Sci., **3**, 191
- 25) Ranson, S. W., and Billingsley, P. R. (1916) Am. J. Physiol., **40**, 571
- 26) Sjöqvist, O. (1938) Studies on pain conduction in the trigeminal nerve. Acta Psychiat. & Neurol., Suppl. XVII, 139 pp.
- 27) Thunberg, T. (1901) Skand. Arch. f. Physiol., **12**, 434
- 28) Thunberg, T. (1905) Nagel's Handbuch, Bd III, 696
- 29) Zotterman, Y. (1933) Acta med. scand., **80**, 185
- 30) Zotterman, Y. (1935) Skand. Arch. Physiol., **72**, 73
- 31) Zotterman, Y. (1936) Skand. Arch. Physiol., **75**, 105
- 32) Zotterman, Y. (1939 a) J. Physiol., **95**, 1
- 33) Zotterman, Y. (1939 b) Acta Psychiat. & Neurol., **14**, 91
- 34) Zotterman, Y. (1959) "Thermal Sensations". Handbook of Physiology (In press).

原 著

肋 間 筋 の 脊 髄 反 射 612.833.217

Spinal Reflex of Intercostal Muscles.

小 谷 覚 (KOTANI-Satoru) *

I. 結 言

私はさきに除脳イヌについて、呼吸運動における肋間筋の働きの様相を研究したが、その際、肋間筋を牽引したり圧迫したりするような刺激、すなわち proprioceptive impulses が、肋間筋の活動電位に変化を与える事を認めた。そこでこのような現象の機序を明らかにしようとして、一連の実験を行ったが、肋間筋の活動に際して、脊髄反射による自己調節作用の存在することを認めたので報告する。

II. 実 験 方 法

この実験には、第6頸節の高さ脊髄を横断したイヌ6頭を用い、脊髄横断までの手術に、1%キシロカインを局所浸潤麻酔剤として用いた以外に、麻酔剤は用いなかった。この動物は、横隔膜による呼吸のみでも実験に耐えられたが、酸素不足による筋、脊髄中枢などの興奮性に対する影響を除くために、多くの場合人工呼吸を行った。動物は一般的には側臥位に固定して、第2肋間より第7肋間までの肋間筋を露出し、その露出面に 38°C の流動パラフィンを十分に滴下することによって乾燥を防ぎ、室温は常に 27乃至 30°C に保った。

活動電位の誘導と記録：私のさきの研究によれば⁵⁾、第2乃至第4肋間の内肋間筋軟骨部(肋軟骨間筋)と、第5乃至第7肋間の内肋間筋軟骨部は、それぞれ殆んど純粋な吸息性および呼息性筋線維から成っているから、この部位に内径

1/4mm の皮下注射針の中に、80 μ の太さの被覆銅線を封入した同心電極を軽く刺入すれば、吸息性及び呼息性筋単位のスパイク放電を容易に誘導することが出来る。増巾器は R-C 結合型で、電磁オツシログラフに連結する。またその中途の端子を、陰極線オツシログラフ及び拡声器に連結しておけば、電位放射の状況を観察或いは音として聞きながら、記録することが出来る。これをそれぞれ吸息性及び呼息性筋単位活動の標示とする。

反射刺激の与え方：吸息筋である第3肋間肋軟骨間筋の尾側の軟骨附着部を、巾約 0.5 乃至 1cm にわたってはく離結紮し、また呼息筋である腹直筋の頭側腱を、第3肋軟骨の部位で切断結紮し、前者は尾側へ、後者は頭側へ牽引することによって、それぞれの筋に伸展刺激を与える。こうしてその際の反射効果を検討した。

III. 実 験 成 績

第6頸節の高さで脊髄を横断すると、動物の脳幹呼吸中枢と肋間筋との連絡は完全に遮断され、呼吸は見掛け上横隔膜のみで行なわれる。しかしこの際肋間筋に電極を刺入してみると、群をなさないが散発的なスパイク放電をみとめる。そしてこの放電は吸息筋よりも呼息筋に頻繁に発生する。このような放電に対する肋間筋及び腹直筋の牽引の影響を検討した。なお他の実験において、牽引する筋を知覚性に支配する後根を切断するか、或いはスパイク放電を誘導している筋の支配神経を切断すれば、上述の影響は認められない。したがって上述の影響は、呼吸筋の脊髄自己反射によってひき起されたも

* 岡山大学医学部第2生理学教室
〔昭和34年4月28日受付〕

のであると考えることが出来る。

A. 吸息筋における反射効果

いま一側の吸息筋たとえば第3肋間の肋軟骨間筋から、その単一神経筋単位の散発的なスパイク放電を誘導観察しながら、同側の吸息筋たとえば第3肋間の肋軟骨間筋を牽引すると、常に放電の頻数が増し、時に recruitment を認める。しかるに、同側の呼息筋たとえば腹直筋を牽引すると、多くの場合に放電の頻数が著明に減少し、或いは全く放電が認められなくなる(第1図A)。このような牽引刺激は、対側の吸息筋のスパイク放電に対しても、上述の場合と全く

同様な影響を与えた(第1図B)。このような反射効果は、第2、3及び4肋間の肋軟骨間筋において同じように認められた。ただ或る1例において、第2肋間肋軟骨間筋の放電が、同側腹直筋の牽引によって、初め頻数増加を示した後に、頻数減少を来すのを認めたことがあつた。

上述の結果から、吸息筋の活動に対しては、吸息筋の伸展刺激は亢進的反射効果を、呼息筋のそれは抑制的效果を及ぼすと云うことが出来るよう。

B. 呼息筋における反射効果

呼息筋から誘導されるスパイク放電に対して

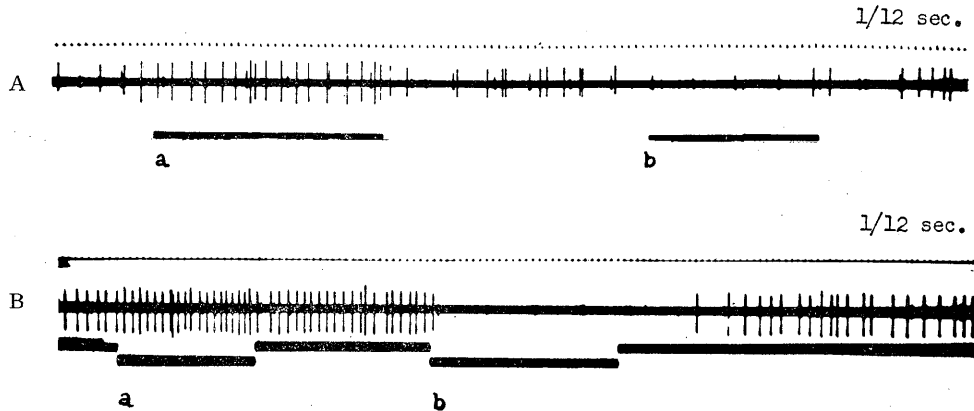


Fig. 1.

Effects of distension of ipsi- or contralateral inspiratory and expiratory muscles upon the discharges of a single inspiratory neuromuscular unit in the spinal dog.

A: Electromyogram led from the intercartilaginous muscle in the 3rd intercostal space on the left side. B: Electromyogram led from the intercartilaginous muscle in the 4th intercostal space on the right side. In both A and B the discharges were accelerated by stretching the intercartilaginous muscle in the 3rd intercostal space on the left side a) and inhibited by stretching the left rectus abdominus muscle b).

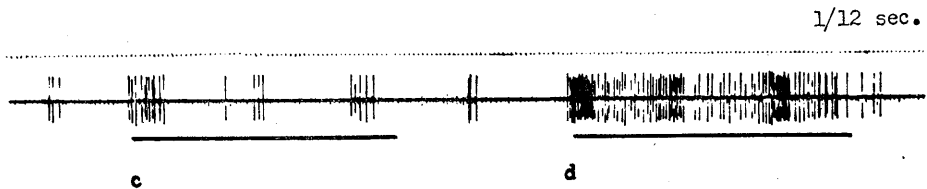


Fig. 2.

Effects of distension of ipsi- or contralateral inspiratory and expiratory muscles upon the discharges of a single expiratory neuromuscular unit in the spinal dog. The artificial ventilation were performed during the experiment. Electromyogram led from the internal intercostal muscle in the 7th intercostal space on the right side. The discharges were increased in their frequency by stretching the intercartilaginous muscle in the 3rd intercostal space on the right side c) as well as of the rectus abdominus muscle on the right side d).

は、吸息筋および呼息筋の牽引は、常にスパイク放電の頻数増加を招来し、時にはrecruitmentがみられた(第2図)。

すなわち呼息筋の活動に対しては、吸息筋及び呼息筋の伸展刺激は常に亢進的反射効果を及ぼす。

いま吸息筋及び呼息筋の牽引刺激が、それぞれ吸息筋及び呼息筋のスパイク放電に及ぼす影響を、亢進効果は $\oplus$ 、抑制効果は $\ominus$ として模型的に示すと第3図のようになる。

上述の結果から、呼吸筋には脊髄のみを介する自己反射の存在することがわかる。そして呼吸運動の際には、常に或る程度の吸呼両筋の牽引がひき起されるから、これによって上述の脊髄反射がひき起され、したがって呼吸運動の様相は、次のように変えられるものと考えられる。すなわち吸息相においては、吸息が或る程度進んで呼息筋が伸展されると、吸息が抑制されるようになり、また呼息相においては、呼息が或る程度進んで吸息筋が伸展されると、吸息筋と呼息筋の反射性活動は同時に起るが、その総合効果によって呼息の第1相はより早期に第2相すなわち休止期に入る事になる。いま脊髄反射の関与しない呼吸運動を破線で、その関与する呼吸運動を実線で、模型的に描くと第4図のようになる。正常の呼吸運動は呼吸筋自身のような脊髄反射による調節作用も加わって、より円滑に行なわれているものと考えられる。

Ⅳ. 論 議

呼吸運動に際し、脊髄反射による呼吸筋の自

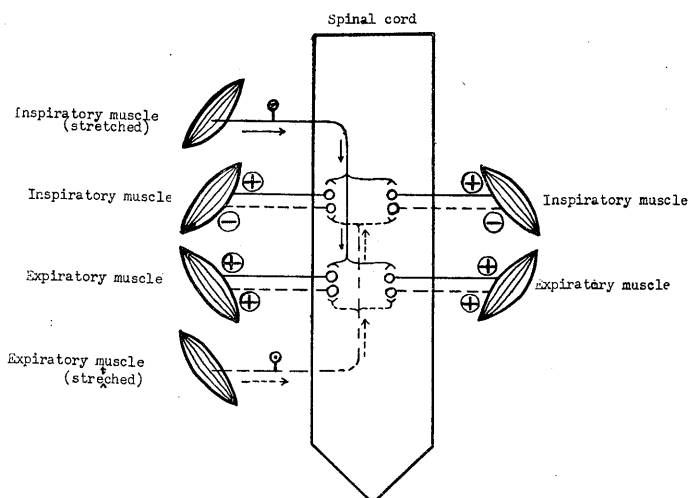


Fig. 3.

Schema showing the effects of inspiratory and expiratory muscle stretch upon the activities of respiratory muscles.

Continuous lines indicate the pathways of impulses produced by inspiratory muscle stretch, while broken lines those of impulses produced by expiratory muscle stretch.

$\oplus$ indicates excitatory response; $\ominus$ indicates inhibitory response.

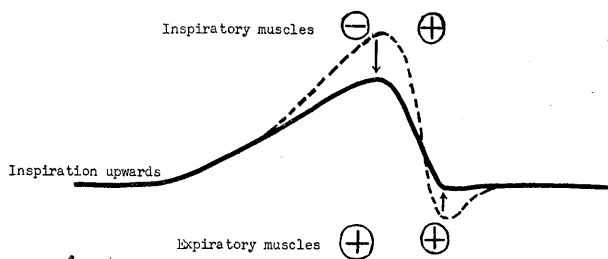


Fig. 4.

Schema showing the regulation of the respiratory movement by the spinal reflex of respiratory muscles.

Continuous line and broken line indicate the course of the respiratory movements with or without spinal reflex control respectively.

$\oplus$ indicates excitatory state; $\ominus$ indicates inhibitory state.

己調節作用が存在することを指摘した報告は、未だこれを見ない。呼吸筋に発生する衝撃が呼吸に影響することを指摘したものには、Fleischの報告があるが¹⁾²⁾³⁾⁴⁾、氏はこの原因を脳幹呼吸中枢の活動の変動に帰着させており、脊髄反射の存在する事には言及していない。Niekerk und Braak⁶⁾はFleischの報告した呼吸反射は、反射性のものではなく、純粋に筋の刺激に対する反応によるものであると主張した。私の実験

結果から考えると、氏等のみとめた反応は、肋間筋の脊髄反射によるものと考えられる。いま Fleisch und Tripod⁴⁾ が第7頸節と第1胸節との間で脊髄を横断したネコの実験において記載している結果を、私の実験結果によって説明してみると次のようになる。この動物では、胸廓は静止しており、横隔膜のみで呼吸をいとなんで居る。吸息（横隔膜下降）の途中で気道に抵抗を挿入すると、胸腔内陰圧は急増し、胸廓は大気圧のために圧縮されるであろう。この状態は、私の実験における吸息筋を牽引した場合に相当する。したがって吸息筋と呼息筋とは共に反射的に活動して胸壁を固定するように作用し、これが大気圧の圧迫による胸廓の縮小に抵抗するので、胸腔内陰圧は更に増大し、吸息は一層強められるであろう。すなわち Fleisch の云う吸息強化反射 *inspirationsaktivierender Reflex* である。また吸息の途中で気道の抵抗を除去すると、胸腔内へ空気が急速に流入する。この圧は胸廓を拡大するように働くであろう。この状態は、私の実験における呼息筋を牽引した場合に相当する。したがって反射的に呼息筋は活動し、吸息筋の働きは抑制されるから、吸息は抑制されることになる、すなわち Fleisch の云う吸息弱化解射 *inspirationshemmender Reflex* である。Fleisch は脊髄ネコの実験においては、この2つの反射のみを記載して居るのであるが、この結果を、肋間筋の脊髄反射による結果であるとは全く気付かないで、氏のさきの実験における10種の反射と同じ機序によって説明しようとしたのである。

V. 結 論

局所麻酔剤のみを用い、第6頸節の高さで脊髄を横断したイヌにおいて、吸息筋として第3肋間肋軟骨間筋、呼息筋として腹直筋をえらび、それぞれを牽引した際に、肋間筋の吸息性筋線維及び呼息性筋線維のスパイク放電に現われる変化を検索した。実験結果は次のように要約される。

1) 吸息筋におけるスパイク放電に対して、吸息筋の伸展刺激は亢進的反射効果を、呼息筋のそれは抑制的効果を及ぼす。

2) 呼息筋におけるスパイク放電にたいしては、吸息筋及び呼息筋の伸展刺激は、常に亢進的反射効果を及ぼす。

3) 上述の結果から、このような肋間筋の自己反射の呼吸運動調節作用について考察を行なった。

終りに臨み、終始懇篤なる御指導を賜った恩師福原武教授および角忠明講師に深く感謝致します。

文 献

- 1) Fleisch, A. (1928) Proprioceptive Atmungsreflexe. *Pflügers Arch.* **219**, 706
- 2) Fleisch, A. (1929) Über die Eigenschaften der propriozeptiven Atmungsreflexe. *Pflügers Arch.* **222**, 12
- 3) Fleisch, A. (1930) Bahnung und Hemmung der propriozeptiven Atmungsreflexe. *Pflügers Arch.* **223**, 509
- 4) Fleisch, A. und J. Tripod (1938) Die afferente Komponente der Atmungsreflexe. *Pflügers Arch.* **240**, 676
- 5) 小谷 覚 (1959) 正常呼吸運動における肋間筋の作用 *日本生理誌* **21**, 146
- 6) van Niekerk, J. und J. W. G. ter Braak (1935) Die Anpassung des Atmungsvorganges an Widerstandsänderungen in den Atmungswegen. *Pflügers Arch.* **236**, 44

Summary

Effects of distension of inspiratory and expiratory muscles upon the discharges of a single inspiratory or expiratory neuromuscular unit were studied on dogs, whose spinal cord was transected at the level of the 6th cervical segment under local anesthesia. The results were summarized as follows.

1) The discharges of inspiratory muscles responded excitatorily to distension of inspiratory muscles, while inhibitorily to that of expiratory muscles.

2) The discharges of expiratory muscles responded always excitatorily to distension of both inspiratory and expiratory muscles.

3) From the results described above it might be concluded that the intercostal respiratory muscles have a proprioceptive spinal reflex control on the respiratory movements.

(2nd Department of Physiology, School of Medicine, Okayama University)

尿中食塩排泄の週期性に就いて 612.461.6

On the Diurnal Rhythm of Salt Excretion.

吉 見 健 幹 (YOSHIMI-Takeki)*

1. 序 言

尿中電解質排泄には著明な24時間の週期性が存在し、これが或程度覚醒・睡眠、或は摂食と無関係に行なわれている事は、既に古くより指摘せられて来た所である (Jores¹⁾). 即ち Na, Cl 及び K の排泄は昼間に増量し夜間に減少し、これと反対に滴定酸量及び磷酸排泄, アンモン排泄は昼間減少し夜間に増量する. 此の週期性が昼夜転倒性生活に於いてもかなりの期間そのまま持続する事は Norm²⁾, 小林³⁾, 高松・斎藤⁴⁾等の指摘した所である. 然しながらこれら電解質排泄週期性の出現機序については多数の見解が発表せられているも未だ充分解明せられていない. 即ち Endres⁵⁾ (1922), は早期尿のアルカリ性化 (滴潮) 出現に関し呼吸機能と関連を指摘したが, Jores¹⁾以降主として自律神経・内分泌系が重要視されるに至った. Jores¹⁾は先ず下垂体後葉, 副腎髓質機能の昼夜変動を重視するも近時 Goldman⁶⁾ (1956) は尿中 ADS 定量により之を否定した. 又副腎皮質電解質ステロイドとの関連を想定する吉村門下の浅田⁷⁾の Na/K の変動観察あるも, Aldosterone 分泌と Na 排泄の週期性の関連は前者が体位変動により容易に影響せられるので一般には認められ得ない (Müller⁸⁾). なほ Doe⁹⁾等は尿中 170 HCS は K の排泄と相關するも, Na のそれとは相關を見ないといっている. 即ち此の面からする説明も不成功に終わったのである.

近時イギリスの Stanbury¹⁰⁾等は尿 pH と電解質 Na, Cl および K 排泄の密接な関連を指摘し、之を体液酸度の呼吸機能による週期的変動に結びつけて説明せんとしたが、尿中電解質排

泄が呼吸性 Acidosis に不感性である事を知り (Longson 及び Mills¹¹⁾), ここに腎尿細管機能の変動が想定されるに至った (Mills 及び Stanbury¹²⁾). 氏等は当初¹⁰⁾¹³⁾ Na, K の排泄の関連性を強調したが、後に Na, K の排泄関係は絶対的なものでない事を認め、総酸排泄量 (滴定酸量 + $\text{NH}_3\text{-HCO}_3$) と密接な相關を示すのは K 排泄量であるとした¹⁴⁾. そして Berliner の説に従い H^+ と K^+ の Na との交換に対する競合いを考えるならば、K 排泄が主動的であり、 H^+ の排泄週期を支配すると考えられるという. Na, Cl 排泄に関しては、 K^+ と H^+ の排泄が遠位尿細管に対する週期的刺激によるものとするれば、Na 及び Cl の排泄は同一刺激の他部の尿細管に対する影響に支配されるであろうと推定した. しかしながら Schlegel¹⁵⁾等は pH と Na, K との相互の密接な関連を認め、浅田は滴潮時の pH の上昇は重碳酸塩の排泄によるものとして Na 排泄との関連を重視しており、此の間の事情も未だ決着されておらない.

以上の現状に於いて著者は人体尿中電解質排泄週期の成立機序を再検すべく、Na, K の排泄関係、特に pH との関連を吟味し、次で比較的等閑にされ来った尿量を取り上げ、食塩排泄週期を体液の動きによって説明せんと試みた.

II. 実験方法

被検者は21~39才の健康成人男子を選び、安静臥床の条件下に時間採尿を行い逐時的観察を行なった. Na 及び K は尿についてはそれぞれ Kramer-Gittleman¹⁶⁾ 及び Kramer-Tisdall¹⁷⁾法、血液については Flame-photometer によった. アンモニヤは Folin-Bell の permutit 法により、pH 測定には硝子電極法、滴定酸量は Henderscon 法 (松本氏変法¹⁸⁾) により測定し

* 千葉大学医学部第2生理学教室 (福田篤郎教授)
〔昭和34年5月2日受付〕

た。

Ⅲ. 実験成績

A. Na 及び K 排泄週期の相互関係

16名についての観察例中, Na と K の排泄週期が図 1 A に示す如くほぼ平行す

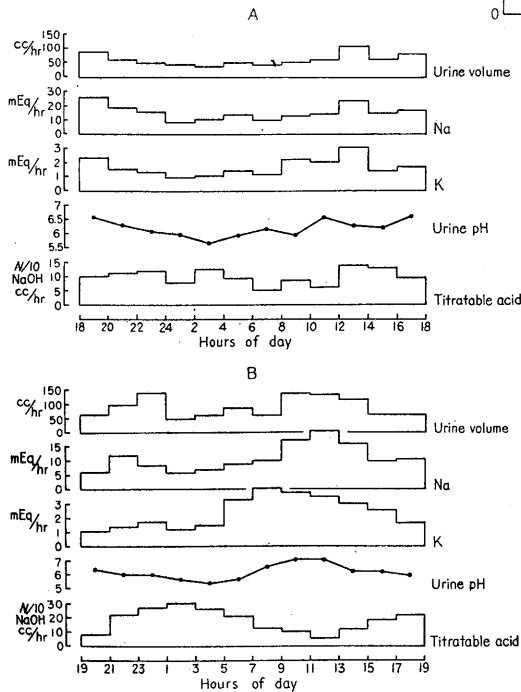


Fig. 1.

Diurnal Rhythm in Urinary Excretion of Electrolytes.

Table 1.

Relation between Excretory Rhythm of Na and K.

Subjects No. Age	Date	Na Excretion				K Excretion			
		Max.		Mini.		Max.		Mini.	
		Hours of day	mEq/hr	Hours of day	mEq/hr	Hours of day	mEq/hr	Hours of day	mEq/hr
1	30 29/III	12-14	23.2	24-2	9.0	12-14	3.0	24-2	0.9
2	34 29/III	10-12	24.4	2-4	5.0	6-8	4.1	4-6	1.9
3	24 3/IV	12-14	13.2	2-4	0.5	10-12	2.8	2-4	1.4
4	35 3/IV	10-12	11.4	22-24	1.4	10-12	1.3	22-24	0.4
5	21 19/VI	8-10	12.1	4-6	5.3	4-6	2.3	12-14	0.6
6	26 19/VI	10-12	15.1	24-2	3.8	22-24	4.0	14-16	0.7
7	20 7/VII	15-17	16.7	1-3	2.1	7-9	2.7	1-3	1.1
8	27 7/VII	15-17	22.0	23-1	4.7	5-7	5.1	23-1	0.7
9	31 19/VIII	8-11	18.3	23-2	3.6	8-11	3.3	2-5	1.0
10	32 19/VIII	11-14	18.2	2-5	1.8	9-11	2.8	23-2	1.8
11	25 9/X	15-17	16.8	1-3	2.2	9-11	2.4	1-3	0.3
12	25 29/X	13-15	33.0	3-5	1.9	13-15	2.7	5-7	0.3
13	32 25/X	11-13	20.0	1-3	5.5	7-9	3.9	1-3	1.1
14	31 22/XI	13-15	17.7	1-3	0.6	7-9	3.3	3-5	1.3
15	39 22/XI	13-15	14.9	1-3	3.0	7-9	3.0	1-3	1.5
16	32 3/XII	10-13	36.3	1-4	7.7	10-13	4.0	1-4	1.1
Mean		12-15	19.5	1-4	3.6	7-11	3.1	1-5	1.0

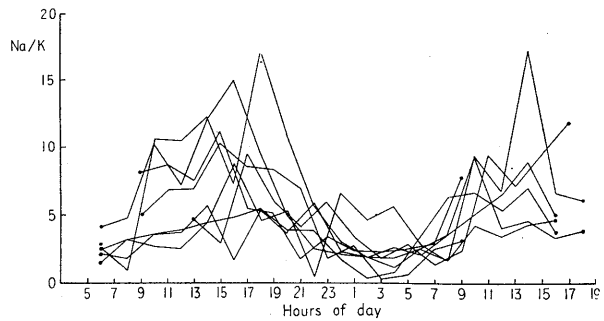


Fig. 2. Diurnal Variation of Urinary Na/K Ratio.

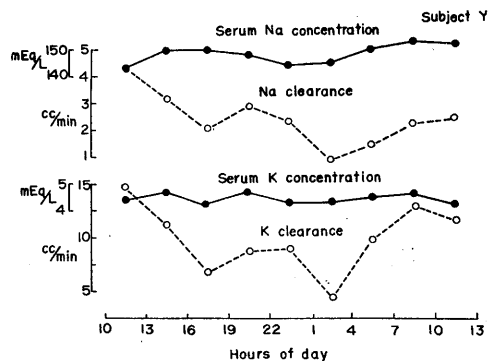
るとみなされるものは5例であり, 残りの11例に於いては図 1 B に例示する如く早朝の K 排泄の増加は Na のそれに先行し, Na 排泄の最高期には既に下降しつつある. Na 及び K の排泄週期のずれの程度は個々の場合かなり相違し, 排泄最高及び最低時刻は表 1 の如くである.

次に Na, K 排泄当量比の時刻的変動を見るに, 図 2 にしめす如く午前より午後にかけて上昇し, 次で夜間に入り低下, 夜半最低に達する. これは Na, K 排泄の相関の有無にかかわらずみられ, Traverse¹⁹⁾, 浅田⁷⁾ の観察と同様である.

Table 2.

Diurnal Variation in Clearance of Na and K.

	Day AM 8.30	Night AM 1.30	Y	A	M	S	Subjects
Serum Na concentration mEq/L	Day	145.0	132.5	146.0	147.0	146.0	
	Night	141.5	143.5	144.0	147.0	149.5	
Na clearance cc/min	Day	0.7	0.8	0.6	1.6	2.0	
	Night	0.5	0.5	0.2	0.4	1.0	
Serum K concentration mEq/L	Day	4.7	4.0	4.8	5.0	4.7	
	Night	4.6	4.3	5.1	4.2	4.6	
K clearance cc/min	Day	3.6	11.0	5.9	9.2	11.3	
	Night	2.7	7.8	2.5	1.9	4.6	



なお Na 及び K の排泄がその血中濃度に支配されて招来されるものか否か、その血清中濃度の腎 Clearance を検するに表 2 の如くである。両者の排泄は血清中濃度に支配されるものでなく、その Clearance に顕著な昼夜変動を見、何れも夜間に減少する。即ち排泄週期は腎機能に関連して生ずるのであるが、しかしながらこれを以て直ちに尿細管再吸収機序の昼夜変動に帰する事は出来ず、それに関しては考察で論ずる

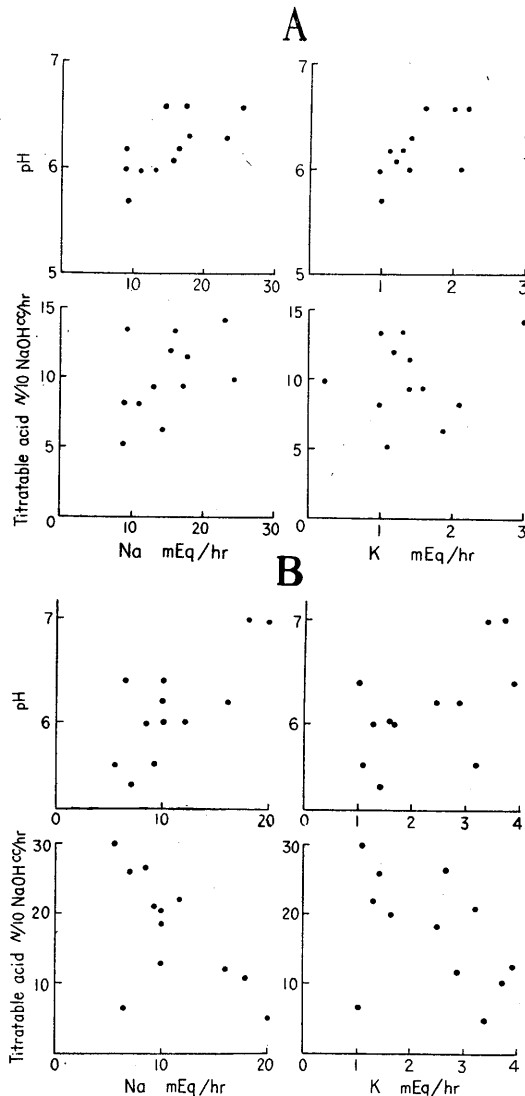


Fig. 3.
Correlation of Na and K Excretion to Acid Excretion.

事とする。

B. 尿 pH と Na, K 排泄との関係

Na と K の排泄週期が平行する場合及びずれを見せる場合について尿 pH 或は滴定酸量と Na 及び K 排泄量の相関々係を検するに、図 3 A, B の如くである。A, B はそれぞれ図 1 のそれについての値である。A に於いては Na 及び K 排泄量と pH との間に多少相関が見られるが、滴定酸量との相関はみとめ難い。B に於いては Na 排泄量は pH 及び滴定酸量と明白な相関を示すが、K 排泄量についてはそれが認められない。上述の如く、B の如き場合が大多数であり、従って一般に pH 或は滴定酸量の週期性に応じた排泄週期を示すのは Na であるといえる。

C. 尿量と Na, K 排泄との関係

単位時間尿量と Na 及び K 排泄量との相関々係を検討した所、尿量と Na 排泄とは高度の相関々係を略全例に見た。之に反し K が相関々係を有する場合は前述の如く図 1 A の代表例に示した Na, K 排泄の略平行関係を示す場合であり、図 4 A に見る如くである。大多数は同図 B に示す如く、Na に比し K は尿量と相関々係を示さない。即ち尿量と密接な関係を有するのは

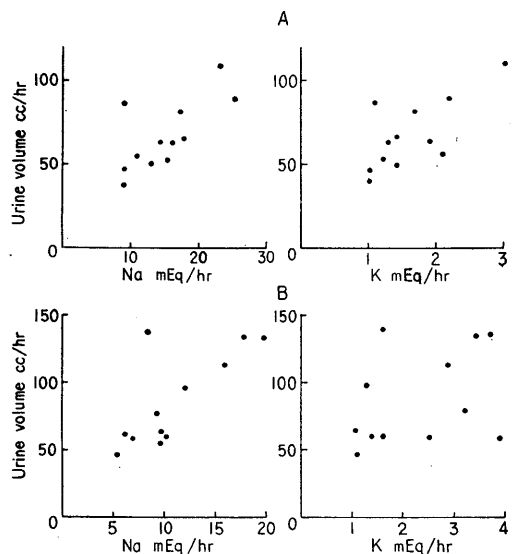


Fig. 4.
Correlation of Excretion of Na and K to Urinary Volume.

Na である事が明白であり、又 Na 濃度が略一定である事から、電解質排泄の週期的変動の主体をなすものは糸球体濾過に基く塩利尿である公算が大であると考えられる。

D. pH と尿量との関係

Na が pH のみならず尿量とも相関々係を有する事から当然予測せらるる如く、pH と尿量との間には図 5 A, B に示す如く相関が見られ、図 1 の A, B に対応する何れの場合も同様である。

E. 食塩排泄週期と血圧及び体温との関係

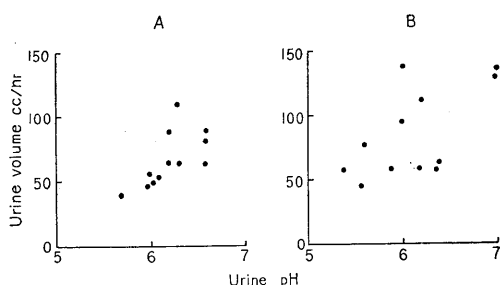


Fig. 5. Urinary pH and Urine Volume.

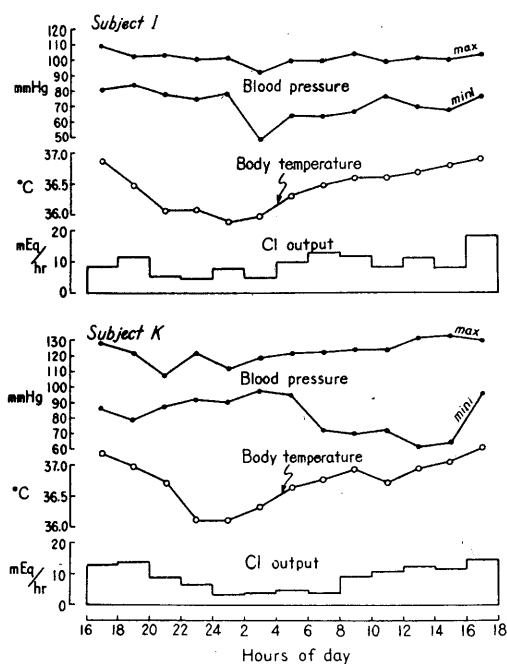


Fig. 6.

Diurnal Rhythm of Chlorid Excretion in Relation to Body Temperature and Blood Pressure.

以上の観察に於いて尿中 Na 及び K 排泄は独自の週期によって行なわれ、特に Na 排泄は等濃度で尿量に支配されて行なわれ、ここに Na 排泄に関しては体液量の昼夜消長に起因する事が推測され得るのである。既に斎藤²⁰⁾、井上²¹⁾、江口²²⁾、等の報告にみる如く、血清蛋白濃度は日中に上昇し、夜間に減少をみ、ここに昼間の血液濃縮、夜間の水血症的傾向が伺われる。この様な体液の変動を背景にした尿中 Na 排泄が、如何なる機序で行なわれるか、体温・血圧といった一般状態に見る昼夜変動との関連を検討してみた。10例についての観察は何れも体温・血圧・Cl 排泄量 (或は尿量) の3者の昼夜変動に相関をみた。図 6 はその2例を示したものである。早朝の体温上昇、縮期血圧の多少の上昇、脈圧の顕著な増加に伴って尿中 Cl 排泄の上昇が開始される。即ちここに物質代謝の昼夜変動を根源に、循環機能の適応に基いて体液消長がみられ、尿中食塩排泄の週期性が出現するものと推測され得るのである。

上記の推論については考察の項で論ずることとして、ここに Na 及び Cl の排泄比に関しふれておく。Na/Cl 商としての観察意義を唱えた Zuckerkindl²³⁾ は昼・夜尿について、昼間は商減じ Na の蓄積傾向を、夜間には Na の過剰排泄がみられると簡単に附記している。著者の観察は全くこれと相反し10例の観察に於いて昼間の商は 1.12、夜間のそれは 0.99 の平均値を得ており、夜間に Na の蓄積、昼間にその放出傾向がうかがわれ、上記の推論を裏書きすることを知った。

IV. 考 察

本研究により著者は Na 及び K の排泄週期はそれぞれ独立のものであり、それが一応昼間に増量、夜間に減少するとはいえ、位相に著しいずれの存することを指摘した。そして Na 及び Cl 排泄は尿量、酸度、pH との密な関連を示し、おそらく NaHCO_3 の排泄増加⁷⁾ を伴い、塩利尿の形で昼間に増加するものと考えられ、その原動力としては代謝、循環系にみる週期性

を想定するに至った。細胞外主成分である Na, Cl の排泄は細胞内主成分である K, PO_4 とは独立に体液量の消長に伴い昼夜変動を営むことは理念的にも推測されるところである。

以上の構想について 2, 3 の事項について考察する。Borst 及び de Vries²⁴⁾ は塩利尿と昼夜変動にみる利尿を別箇なものとして、前者には必ずしも K 排泄を伴わず、後者は細胞内・外液の排除に基く特殊なものとなし、しかしこの分類は決定的なものでなく、昼夜変動に於いても Na 排泄に K 排泄の伴わない場合の存することは既に指摘したところである。又饑餓時は K 排泄が逆転する事があるといわれ²⁵⁾、著者は hydrazid 服用軽症肺結核患者の 2 例に K 排泄週期が逆転し夜間に増すのを見た。要するに昼夜変動はすべて Na と K 排泄が相伴うという考えは正しくない。斎藤・高松²⁰⁾ は血清屈折率と血清食塩 (Cl) の昼夜変動を観察し、夜間血液水分量の増大時には食塩量も増し、尿中 Cl 排泄は減少すると述べ、高温環境も同様な血液変化を来す事と併せ考え、昼夜を週期として組織と血液との間に、水分塩分の移動交流現象が行なわれるとし、これを細胞の機能昂進沈静や自律神経緊張の週期性と結びつけて考察している。然し血清 Na 濃度の昼夜の値を比較するに表 2 に示した如く、特に夜間に高まることは認められず、結局血液量・体液量の週期性が問題となり、所謂 Volume receptor の活動週期が尿中 Na, Cl の排泄週期を決定するのではないかと考えられる。細胞内電解質である K の排泄週期はこれと異り組織の活動性に支配されると思われる。此の点に関して当教室の小林³⁾ は K 排泄は酸排泄に多く先行し、恐らくは組織緩衝系の活動によるものではないかと考察している。

尿中電解質の排泄週期に関しては現在それが腎性に招来され、特に尿細管機序が問題とされている。Sirota 等²⁶⁾ は inulin, PAH の持続注入法により真夜中より午前 4 時にかけて糸球体濾過量が僅かであるが明らかに低下するも、腎血漿流量は殆んど変らず、夜間の尿量減少は尿

細管再吸収によると結論した。従って夜間の Na 排泄減少もその再吸収増加によるといえる。ここに問題となる事は糸球体濾過量の減少が僅かであるからといって、直ちに結果を尿細管再吸収によって説明せんとする事の妥当性である。尿細管機能が一定であれば僅かの濾過量の変化も顕著な尿中排泄量の変化を招来し得るわけである。食塩排泄については塩利尿としてこのような可能性が多いと思われる。

V. 結 論

尿中電解質排泄に見る週期性を人体に於いて検討し、以下の成績を得た。

Na の排泄週期は多くの場合 K のそれと一致せず、後者が先行する。尿量, pH, 酸度と最も関連性を示すのも Na 或は Cl 排泄量であり、NaCl 排泄に見る週期性は体液量の昼夜変動に伴う塩利尿と考えられる。NaCl 排泄週期は体温、血圧 (特に脈圧) の週期性とほぼ一致する。

本研究に際し終始御懇篤な御指導及び御校閲を賜わった恩師福田篤郎教授に深く感謝の意を表し、あわせて御協力いただいた教室員諸氏、並びに研究の機会を与えられた国立療養所下志津病院々長飯田政雄博士以下医局員御一同に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Jores, A. (1935) Physiologie und Pathologie der 24-Stund-Rhythmik des Menschens. *Erg. inn. Med. u. Kinderheilkund* **48**, 574
- 2) Norn, M. (1928) Über Schruankungen der Kalium-Natrium und Chlorid Ausscheidung durch die Niere im laufe des Tages. *Scand. Arch. Physiol.* **55**, 184
- 3) 小林 丘 (1950) 尿中カリウム排泄の週期性成立について *日本生理誌* **12**, 343
- 4) 高松 誠・斎藤 一 (1950) 晝夜転倒生活が尿排泄の週期性に及ぼす影響 *日本生理誌* **12**, 学49
- 5) Endres, G. (1922) Über Gesetzmässigkeiten in der Beziehung zwischen Wahren Harnreaktion und der Alveolaren CO_2 spannung. *Biochem. Ztschr.* **220**, 241
- 6) Goldman, R. and E. B. Luchsinger (1956) Relationship between diurnal variations in urinary volume and the excretion of antidiuretic substance. *J. Clin. Endocrinol* **16**, 25
- 7) 浅田照夫 (1958) ヒト尿に現れる滴潮の原因について *日新医学* **45**, 31

- 8) Muller, A. F. (1958) An international symposium on Aldosterone. London. J. and A. Churchill
- 9) Doe, P. R., E. B. Flink, and M. G. Goodsell (1956) Relationship of diurnal variation in 17-Hydroxy corticosteroid levels in blood and urine to eosinophils and electrolyte excretion. *J. Clin. Endocrinol.* **19**, 196
- 10) Stanbury, S. W. and A. E., Thomson (1951) Diurnal variation in electrolyte excretion. *Clin. Sci.* **10**, 267
- 11) Longson, D. and J. N., Mills (1953) The failure of kidney to respond to respiratory acidosis. *J. Physiol.* **122**, 81
- 12) Mills, J. N., and S. W. Stanbury (1955) Rhythmic diurnal variations in the behaviour of the human renal tube. *Acta. Med. Scand. supp.* **307**, 95
- 13) Mills, J. N., and S. W. Stanbury (1952) Persistent 24-hour renal excretory rhythm on a 12-hour cycle of activity. *J. Physiol.* **117**, 22
- 14) Mills, J. N., and S. W. Stanbury (1954) A reciprocal relationship between K^+ and H^+ excretion in the diurnal excretory rhythm in man. *Clin. Sci.* **13**, 177
- 15) Schlegel, J. U., W. L. Parry, J. J. Bethell and A. L. Block (1953) Study of relationship between pH of urine and sodium potassium excretion. *Proc. Soc. expor. Biol. Med.* **84**, 223
- 16) Kramer, B. and I. Gittelman (1923) Anjodometric method for the determination of sodium in small amount of serum *J. Biol. Chemi.* **62**, 353
- 17) Tisdall, F. F., and B. Kramer (1921) Methods for the direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in urine and stools. *J. Biol. Chem.* **48**, 1
- 18) 松本武一郎 (1930) 尿の水素イオン濃度・酸量及び2, 3尿成分の時刻的動揺 十全会誌 **35**, 2133
- 19) De Traverse, et Coquelet (1952) Variations nyctémérales du rapport Sodium/Potassium dans la salive et l'urine. *Compt. rend. Soci. Biol.* **146**, 1099
- 20) 斎藤 一・高松 誠 (1949) 人体内部環境の1, 2の性質 日本生理誌 **11**, 学31
- 21) 井上寿明 (1954) 食塩代謝に関する研究 体質医学研究所報告 **4**, 172
- 22) 江口文野 (1954) 血清蛋白の生理的変動に関する研究 京府医大誌 **55**, 6
- 23) Zuckerkandl, F. (1935) Über das Verhältnis der Natrium-Zur Chlor Ausscheidung im Harn. I. Mitteilung Der Natrium-chlor-Quotient. *Klin. Wschr.* **14**, 567
- 24) Borst, J. G. G., and L. A. DeVries (1950) The three types of "Natural" diuresis. *Lancet* **2**, 6618
- 25) Smith, H. W. (1951) The kidney New York Oxford University press.
- 26) Sirota, J. H., D. S. Baldwin, and H. Villarreal (1950) Diurnal variations of renal function in man. *J. Clin. Invest.* **29**, 187

Summary

It has been demonstrated that the diurnal excretory rhythm of Na and K are independent each other. Excretory rhythm of NaCl as saline diuresis showed close correlation to the rhythm of body temperature and arterial blood pressure.

(2nd Department of Physiology, School of Medicine, Chiba University)

水利尿時のアンモン排泄増加に就いて 612.461.267

Increase in Urinary NH_3 Excretion on Water Diuresis

吉 見 健 幹 (YOSHIMI-Takeki)*

I. 序 言

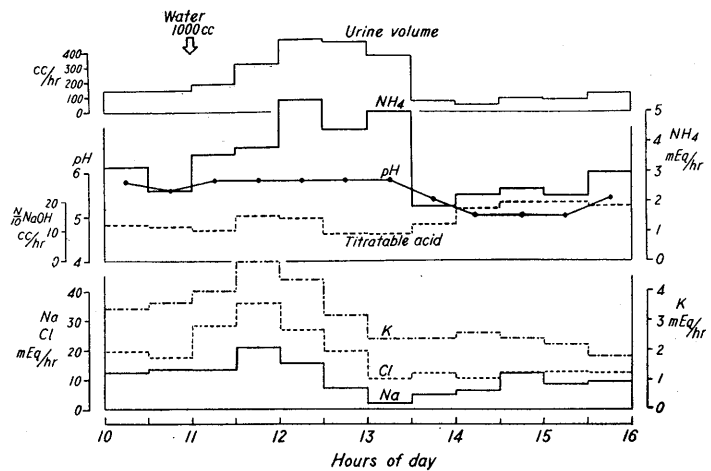
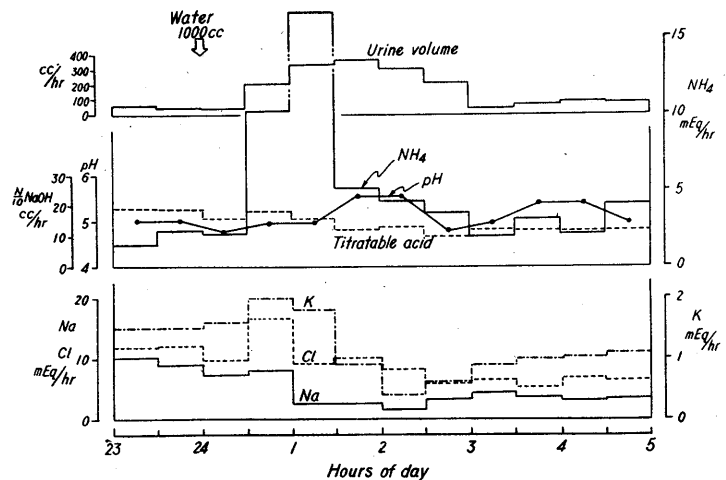
人体の尿中電解質排泄, 特に食塩のそれに見る著明な週期性は, おおむね尿量と相関する事は屢々報告され¹⁾²⁾, 著者³⁾も亦これを強調した。しかしながらこの様な相関は, 大量の飲水を一時に行う水利尿時には認められず, 水利尿が電解質排泄週期性に及ぼす影響が軽微である事もよく知られた事実である (Urbach⁴⁾)。著者は電解質排泄の週期性にたいする水利尿の影響を検討中, pH, 滴定酸量に変化は少ないが, NH_3 排泄の増加がある事に気が付き, これが $\text{Na}-\text{NH}_4$ 交換機序として塩類喪失に対する抑制機序として働くのではないかとこの想定を抱くに至ったので, ここに水利尿時の NH_3 排泄増加の機序を検討するに至った次第である。

II. 実験方法

健康成人男子に水 1l を 10 分以内に飲用せしめ, 30 分間採尿により逐時的観察を行った。

尿 Na は Kramer-Gittleman⁵⁾, K は Kramer-Tisdall 法⁶⁾, Cl は Mohr 法, 滴定酸量は Henderson 法 (松本氏変法), NH_3 は Follin-Bell permutit 法⁷⁾, pH は硝子電極法により測

* 千葉大学医学部第 2 生理学教室 (福田篤郎教授)
〔昭和 34 年 5 月 2 日受付〕

Fig. 1. Effect of Water Diuresis upon NH_3 Excretion (Day Time).Fig. 2. Effect of Water Diuresis upon NH_3 Excretion (Night Time).

定した。

III. 実験成績

A. 水利尿の電解質排泄に及ぼす影響

電解質排泄には衆知の如く著明な日間変動があるので, 水利尿の影響を検討するにあたって

は、昼夜の別を考慮に入れる事が極めて必要である。図1は日中電解質排泄が最大となり、やがて減少せんとする時刻に水 1l を速かに飲ませた際の経過を示す。pH、滴定酸量には殆んど影響なく、Na, Cl, K 排泄も略正常の経過をとり、特に水利尿により増加を来す事はない。しかるに NH_3 排泄は明らかな増加を示し、之が pH の低下、滴定酸量の増加を伴わない事が注目を惹く。図2は夜間電解質排泄が最低に達す

る時刻に同様水 1l を飲用せしめたものである。水利尿は昼間に比し多少遅れて出現する傾向を示すが、滴定酸量はあまり変化なく pH には多少増加の傾向が見られたにもかかわらず、 NH_3 には上記と同様顕著な排泄増加をみた。Na 排泄には殆んど見るべき影響がないが、K 及び Cl が利尿初期に多少排泄増加を示した。この傾向は図1の昼間実験でも見られる。以上の実験より水利尿時には今迄注目せられなかった NH_3 排泄増加が特有な現象として招来

される事を知り得た。

B. 水利尿時 NH_3 排泄増加に対する Pituitrin 投与の影響

水利尿は脳下垂体後葉より ADH の分泌抑制にともなう尿細管での水再吸収の減弱による事は確定された事柄である。此所に水利尿にともなう NH_3 排泄増加が ADH 分泌減少に起因して招来されるか否かを検すべく、飲水後の水利尿の開始時期に pituitrin 投与を行った。成績は図3に示す如くであり、水利尿抑制と同時に NH_4 排泄増加は完全に抑制されることを知った。滴定酸量に変化なく、電解質排泄に於いては Na, Cl 排泄には殆んど影響が見られないが、ひとり K 排泄のみは pituitrin 投与後顕著な排泄増加を見た。実験時刻は1日の中で電解質排泄減少期と考えられるが、此の K 排泄の一過性増加は NH_3 排泄の減少と関連して特に注目される。

此所に於いて水利尿時の NH_3 排泄増加が ADH の分泌減少に起因すると推定し得たので、pituitrin 投与が水利尿時以外の常時の NH_3 排泄に影響を及ぼすか否かを検討して見た。図4

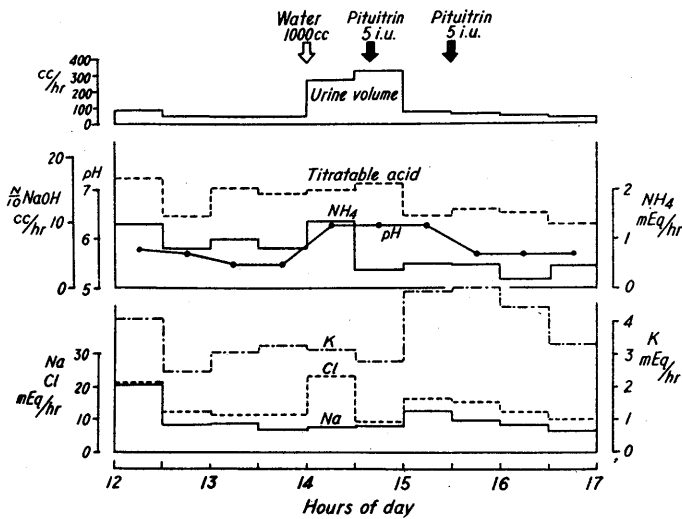


Fig. 3.

Effect of Pituitrin upon Water Diuresis and the Accompanying Increase in NH_3 Excretion.

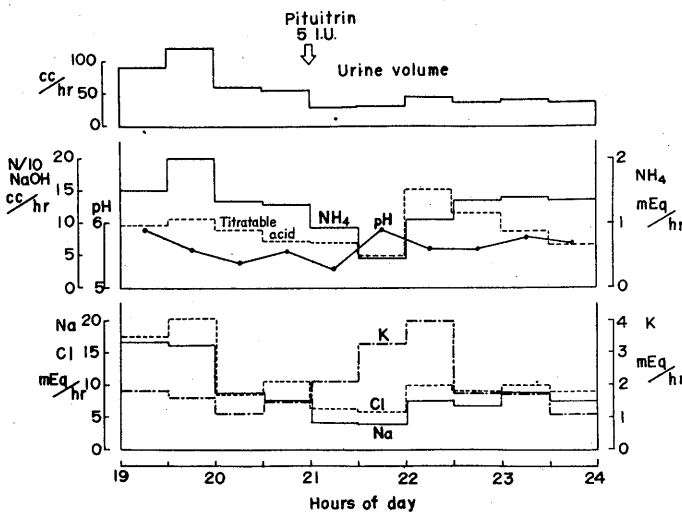


Fig. 4. Effect of Pituitrin upon NH_3 Excretion.

は夜間の NH_3 排泄増加期に *pituitrin* 投与を行なった例である。尿量にさしたる影響なく NH_3 排泄には一過性の排泄抑制を見た。Na, Cl の排泄も殆んど変化なく此所に於いても亦 K 排泄のみが明白な増加をしめすことを知った。即ち *pituitrin* の影響は水利尿とは別に, NH_3 排泄抑制, K 排泄増強を来す事を確認し得た。

IV. 考 察

本研究に於いて著者は尿細管に於ける NH_3 排泄機序が *pituitrin* (恐らくは ADH) によって支配されるという事実を観察し得たのであり, 水利尿時に於ける NH_3 排泄増加を ADH 分泌減少により解釈せんとするものである。*pituitrin* による NH_3 排泄減少が常に K 排泄増加をとともなう事から尿細管に於ける Na の再吸収に関して $\text{Na}^+ - \text{NH}_4^+$ 交換機序に対する $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 交換機序の代償的活動が推測される。なお *pituitrin* による食塩排泄増加に関しては, 嘗て動物実験で強調されたが, *pituitrin* の量, 体の含水量等の問題もあり, 今日特に人体では一般に認められていない⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。

水利尿に於ける NH_3 排泄増加は Na の洗流しに対する防禦機序としての合目的性を有するのではないかと想像される。 NH_3 排泄は通常 acidosis に際し酸排泄に平行して増減すると考えられ, 尿 pH と NH_3 排泄量との相関が Pitts¹¹⁾ によって指摘されている。しかし *diamox* 使用時には尿はアルカリ化するにもかかわらず NH_3 排泄の増加を見るのであり, Rector¹²⁾ は NH_3 排泄は少なくとも部分的には尿 pH と無関係に *glutaminase* の活性化を介して生成せられ NH_4^+ として $\text{Na}^+ - \text{NH}_4^+$ 交換機序により尿に分泌せられる事を想定した。今本実験に於いて観察され得た *pituitrin* と NH_3 の関係もおそらく此の様な機序によるのであろう。*pituitrin* と *glutaminase* 活性と関係は今後検討さるべき重要問題であると思われる。

V. 結 論

A. 水利尿は酸及び電解質排泄の週期性の上に殆んど影響を与えぬが, 顕著な NH_3 排泄を招来する。

B. 此の NH_3 排泄増加は *pituitrin* 投与によって水利尿と同時に抑制される。此の際酸, Na, Cl 排泄には殆んど影響がないが, K 排泄には著明な増加が見られる。*pituitrin* による NH_3 排泄抑制, K 排泄増加は非利尿時にも観察し得, 利尿には関係がない。

本研究にあたり御懇篤な御指導と御校閲を賜わった恩師福田篤郎教授に深く感謝の意を表すると共に御協力下された教室員諸氏並びに研究の機会を与えられた国立下志津病院長飯田政雄博士以下医局員御一同に厚く感謝の意を表す。

文 献

- 1) Mills, J. N. and S. W. Stanbury (1952) Persistent 24-hour renal excretory rhythm on a 12-hour cycle of activity. *J. Physiol.* **117**, 22
- 2) 井上寿明 (1954) 食塩代謝に関する研究 体質医学研究所報告 **4**, 143
- 3) 吉見健幹 (1959) 尿中食塩排泄の週期性に就いて 日本生理誌 **21**, 981
- 4) Urbach, J. R., W. S. Stlinger and S. Bellet (1953) Effects of waterdiuresis on renal excretion of certain urinary solutes in normal man. *J. Appl. Physiol.* **6**, 243
- 5) Kramer, B. and I. Gittelman (1923) An iodometric method for the determination of sodium in small amount of serum. *J. Biol. Chem.* **62**, 353
- 6) Tisdall, F. F. and B. Kramer (1921) Methods for the direct quantitative determination of sodium, potassium, calcium and magnesium in urine and stools. *J. Biol. Chem.* **48**, 1
- 7) Folin, O. and R. D. Bell (1917) Applications of new reagent for the separation of ammonia. I. The colorimetric determination of ammonia in urine. *J. Biol. Chem.* **29**, 329
- 8) Hare, R. S., K. Hare, and D. M. Phillips (1944) The renal excretion of chloride by the normal and by the diabetes insipidus dog. *Am. J. Physiol.* **140**, 334
- 9) Little, J. N., S. L. Wallace, E. C. Whatley and G. A. Anderson (1947) Effect of *pitressin* on the urinary excretion of chlorid and water in the human. *Am. J. Physiol.* **151**, 174
- 10) Crutchfield, A. J. Jr., and J. E., Wood (1948) Urine volume and total renal sodium excretion during water diuresis. *Ann. Int. Med.* **28**, 28
- 11) Pitts, R. F. (1948) Renal excretion of acid. *Fed. Proc.* **7**, 418
- 12) Rector, F. C. Jr., D. W. Seldin, A. D. Roberts and J. H. Copenhaver (1954) Relation of ammonia excretion to urine pH. *Am. J. Physiol.* **179**, 353

Summary

It has been observed that water diuresis induces a prominent increase in urinary NH_3 excretion. The NH_3 excretion, on the other hand, decreased on *pituitrin*.

(2nd Department of Physiology, School of Medicine, Chiba University)

イヌの心室筋細胞電位に及ぼすキニチンの作用 612. 17-083:612. 014. 423:615.751

Effects of Quinidine upon the Membrane Potentials of Canine Ventricle.

桜 井 潔 (SAKURAI-Kiyoshi) *

1. ま え が き

キニヂンはプロカイン・アミドと共に心臓の不整調律の治療剤、殊に心房細動抑制剤 (Anti-fibrillatory agents) としてその効果が一般に認められている。然してその理由は心筋の興奮性の低下、不応期の延長、興奮伝導速度の低下によるものとされる (Goodman & Gilman¹⁾, Brooks²⁾ 及びその文献参照)。これらの心筋諸特性は心筋の電気的活動 (活動電位) により最もよく研究することが出来る。殊に近年発展を見た微小電極による心筋細胞の膜電位によるときは、心筋線維個々の電気的活動を直接的に且つ純粋に近い形で観察することができるからキニヂンの作用についても細胞電位の面で研究することが望ましい。

Weidmann³⁾ はウシ、ヒツジの心室内刺激伝導系線維 (Purkinje 線維) についてキニヂン、プロカイン等の作用を研究し、これらの薬剤は心筋標本の自動性活動を抑制し、膜活動電位の立上り速度及び興奮伝導を低下する事を見た。但し静止電位はそれ程低下しないから静止電位の影響ではないと考えた。Johnson もモルモットの心室筋について略同様な所見を得たが⁴⁾、さらにアセチルコリンがキニヂンに拮抗する点をウサギの心筋筋で研究し、キニヂンは所謂 Na-carrier を直接に不活性化すると推論した⁵⁾⁶⁾。

II. 実 験 方 法

実験の装置および方法はさきに松田等⁷⁾ の発表したものと同じで、使用した電気回路は桜井等⁸⁾ の製作発表したものを用いた。

* 東北大学医学部応用生理学教室
〔昭和34年5月3日受付〕

イヌは体重 1.1~6.0kg 平均 3.0kg のものを用いた。先ず Sodium thiopental (Thiobal, 第一製薬) 30mg/kg 腹腔内注射で麻酔し、人工呼吸の下に前胸壁を開き速かに心臓を摘出し、直ちに右室遊離壁より数個の標本 (約 1cm² 大) を作製、之を酸素飽和、37°C の Tyrode 液槽中に保存する。左室壁は厚過ぎるので通常用いなかった。

尚標本の一部は24時間氷室中 (1~3°C) の Tyrode 液槽に保存したものを用いた。この様な長時間低温曝露した標本も再加温により完全に回復し 37°C Tyrode 液槽中保存のものと差のない事は松田等⁹⁾ の報告の通りであり、本実験にも何等支障はなかった。

使用した Tyrode 液の組成は NaCl: 147mM, KCl: 2.68mM, CaCl₂: 1.8mM, MgCl₂: 0.49mM, NaH₂PO₄: .5mM, Na₂HPO₄: 4.5mM, Glucose: 1g, 水 1,000cc である。この液の pH は 7.2 で、100% 酸素を通気して使用する。

超微小電極はテレックス (東京電気ガラス) 硝子管外径約 1.2mm 肉厚 0.3mm のものより電極作製装置を用いて作り尖端直径約 0.5μ で、3M-KCl を管腔内に満たしたときの電極抵抗が 10-20MΩ のものを使用した。電極は Lucite 製の保持器に装置し保持器内の 3M-KCl 及び Ag-AgCl 電極を経て前置増幅器に連なる。

標本は実験装置の Tyrode 液槽中のパラフィン渗透コルク板に細いピンで適当に固定し、Ag-AgCl 細針電極を通して感応電撃により一定週期 (通常 700mS 頻度 85/分) で刺激する。刺激電流はサイクロン放電電流をその陰極回路よりとり感応コイルの 2 次側を上記電極につないで標本駆動に使用した。

硫酸キニヂンは局方製剤を Tyrode 液にて 0.2% に溶解、37°C に加温したものを使用した。

この液の10滴を液槽中に溶解した時は $8 \times 10^{-6}/ml$ に相当する。

液槽中の Tyrode 液は恒温槽中を絶えず循環し、液温は 37°C 一定に保たれ同時に酸素で十分に飽和されている。

細胞電位は Du Mont 社製 Dual Oscilloscope 322-A 型にて観察、計測、写真撮影を行った。

Ⅲ. 実験結果

心筋は骨格筋と異なり常時反復興奮しているのが正常状態であるから実験中は常に週期的に電気刺激を反復した。本実験に於いては特殊の場合以外は刺激頻度は毎分 85 (週期 700mSec) とした。標本は心内膜面を双眼顕微鏡で観察しながら電極穿刺を行った。電極が細胞内に入ると通例安定した $-80 \sim -100\text{mV}$ の電位が得られる。即ち静止電位 (RP) である。この心筋細胞が興奮するや一定の活動電位 (AP) を描く。即ち急速な立上り (脱分極相) について Overshoot を示した後一旦下降し、Spike を描いてから Plateau (水平部) に移り、次いで稍々急に下降する再分極相を経て元の RP に戻る。この AP の経過は心臓内の部位により多少差がある。心室内膜下細胞に於いても Purkinje 線維又はその末梢と思われるものと (以下 Purkinje 型と呼ぶ)、心室個有筋と思われるもの (以下乳頭筋型と呼ぶ) を活動電位からほぼ区別する事が出来る。

微小電極により第 1 層の細胞を貫通した後第 2～第 3 層迄も良好な穿刺が可能であるが本実験にては液槽中の薬物の影響を見るのが目的であるから第 1 層の細胞についてのみ観察した。

硫酸キニジンは通例液槽中の Tyrode 液全般に等濃度になる様稀釈負荷した 22 例の実験結果

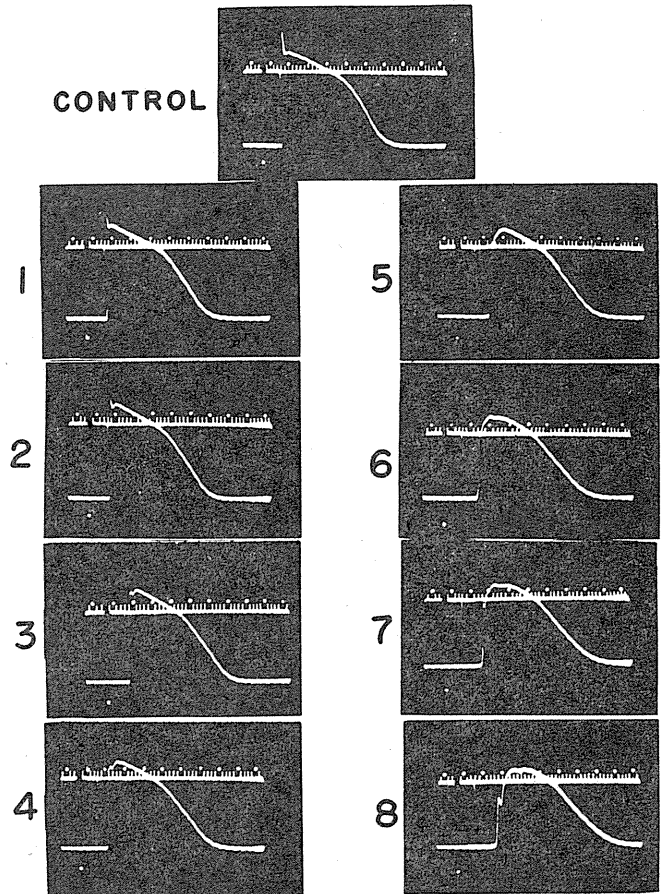


Fig. 1.

The effect of quinidine upon the membrane potential of Purkinje-type cell of dog's ventricle. Explanation in text. Upper horizontal line shows extracellular potential. Time marks, 10 and 50 mSec. Voltage calibration at the bottom of left side indicates -100mV .

によると細胞電位に影響があらわれる最小有効濃度は $2 \sim 3 \times 10^{-6}/ml$ であった。且つその効果は標本洗滌により概ね完全に消失した。即ち可逆的であったが高濃度になると復元に長時間を要し充分可逆的でなくなることもある。

静止並びに活動電位に及ぼすキニジンの影響

影響の全経過を Purkinje 型細胞について記録した具体例を第 1 図、第 2 図に示す。

第 1 図は Tyrode 液全体に等濃度になるように硫酸キニジンを加えた場合を示す。その際の細胞電位の変化値は次のようである。

	RP mV	Overshoot mV	D20% mS	D10% mS
Control	82	38	230	245
キニジン $8 \times 10^{-6}/ml$				
1(2')	79	32	225	245
2(5')	80	26	230	245
3(10')	78	24	230	247
キニジン追加 総濃度 $16 \times 10^{-6}/ml$				
4(5')	78	18	235	255
キニジン追加 総濃度 $24 \times 10^{-6}/ml$				
5(5')	77	18	235	260
6(10')	72	19	245	270
7(15')	73	16	250	275
キニジン追加 総濃度 $32 \times 10^{-6}/ml$				
刺激強度を上げる				
8(5')	72	13	260	290

第2図は微小電極穿刺部位に局所的に 0.2% 硫酸キニジン 5 滴 ($5 \times 10^{-4}g$) 添加した場合の変化を示す。この際薬液の洗い去られるのを防ぐために短時間 (約30秒) Tyrode 液の流動を

止めた。

この図に於ける細胞電位の諸値は次の如くであった。

	RP mV	Overshoot mV	D20% mS	D10% mS
Control	80	34	165	180
キニジンを上のように追加 1-6 迄は約30秒間の時々刻々の変化を示す				
1	80	13	175	192
2	79	10	177	192
3	78	9	177	197
4	77	8	177	197
5	79	8	175	195
6	80	9	175	195
Tyrode 液の流動開始、穿刺部よりキニジン洗い去る				
7(3')	70	23	180	195
Tyrode 液を更新、キニジンを充分洗い去る				
8	88	27	215	

以上第1, 第2図を通じて観察せられたキニジンの作用は, 1) RP の低下, 2) Overshoot の著明な減少, 3) AP の立上り相の変化, 脱分極速度の低下 (第3図, 4以下) と不連続性 (段又は切れ込みの発現等), 4) AP 持続時間の延長, 5) Plateau の短縮である。

以上の所見は他の実験例すべてを通じてほぼ同様に認められた。殊に脱分極速度の低下が顕著で, RP の低下に比べて特に著しいことは注目し得る。

このような脱分極相の変化は Purkinje型細胞で著しく, それに比べて乳頭筋型では軽微であることを見出した (第3図)。

興奮伝導速度に及ぼすキニジンの影響

心室筋に於ける興奮伝導速度は次のようにして観察した。標本の一定部を上述の如くサイラトロン放電電流で刺激しその強度を充分にあげておく。微小電極によりそれより一定の距離にある細胞の膜電位を記録すると、刺激の artifact

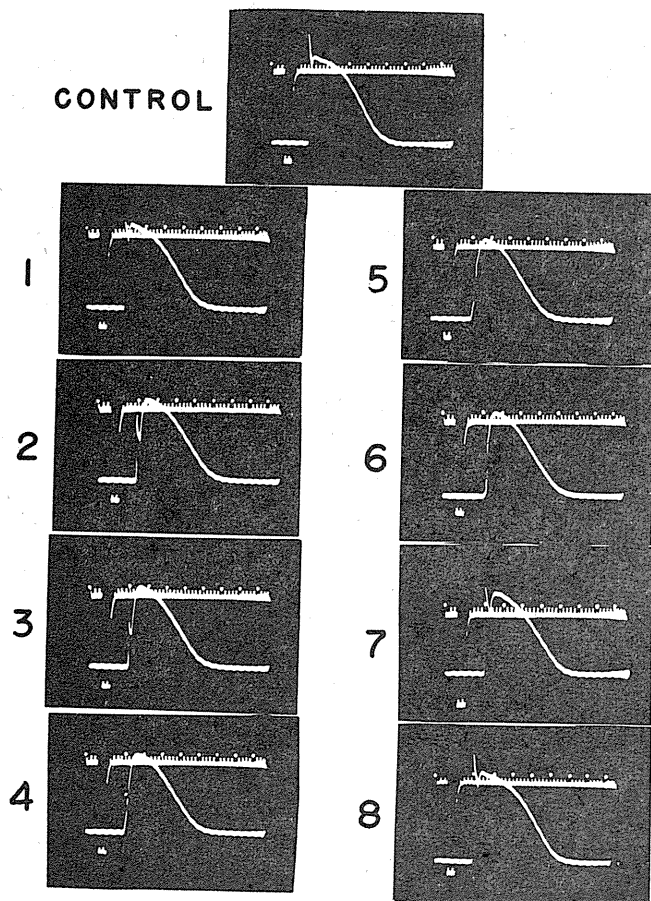


Fig. 2.

The effect of quinidine upon the Purkinje-type cell of dog's ventricle. Explanation in text. Time mark and calibration as indicated in Fig. 1.

と細胞電位の立上り時点との時間×隔は刺激部位よりこの細胞までの興奮伝導時間を示す。これがキニジンの作用により変化する様子を追求したのが第4図である。この場合の伝導距離は1cmであって伝導時間の変化は次の如くであった。キニジン濃度は $4 \times 10^{-6}/ml$ 。

	伝導時間 mSec	平均伝導速度 m/Sec
1(Control)	7	1.43
2(30'')	9.5	1.05
3(1')	10	1
4(2')	12	0.83
5(5')	13.5	0.74
6(10')	17	0.59

この状態で定常化したので更にキニジンを追加し総濃度は $20 \times 10^{-6}/ml$ とした。その後の変化は、

7(追加直後)	18	0.55
8(30'')	30.5	0.33
9(1')	35	0.29

キニジンの治療有効血中濃度は $4 \times 10^{-6}/ml$ 程度であるから、この実験に於いて心室内興奮伝導時間は control の約40%に低下していることがわかる。図の9では約20%に迄低下したことになる。

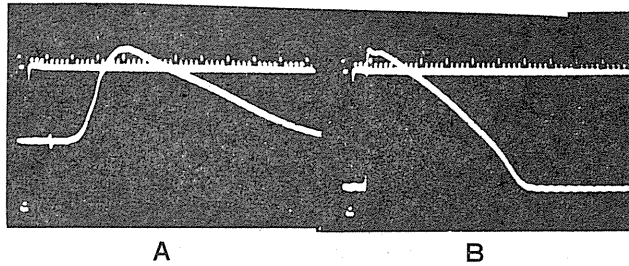


Fig. 3.

Comparison of quinidine-induced alterations of membrane potentials of Purkinje-type cell (A) and proper ventricular muscle fiber (B). Records were taken 1 hour after administration of quinidine sulfate ($6.4 \times 10^{-6}/ml$).

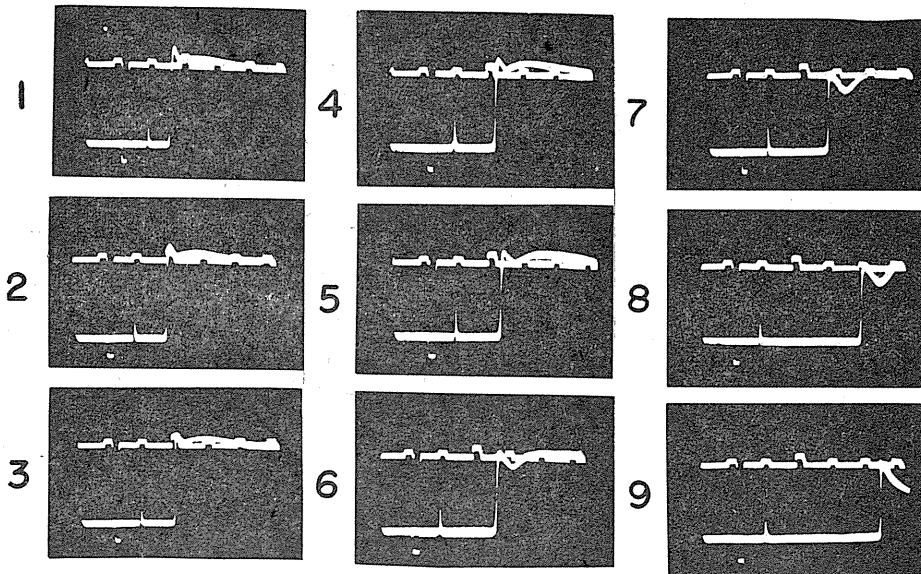


Fig. 4.

The effect of quinidine upon the conduction time of ventricular muscle. Action potential was recorded at the point 1 cm apart from stimulation electrode. Time marks and calibration same as in Fig. 1.

興奮性に及ぼすキニデンの影響

心室筋の電気興奮性は刺激閾値で判定することが出来る。以上の実験でもキニデン作用時には反復刺激用電撃の強さを高めないと応じなく

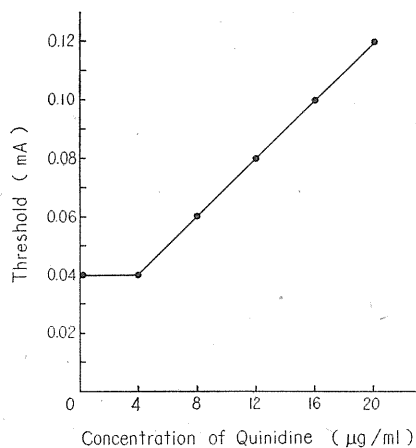


Fig. 5.

The relationship between the electrical excitability (current threshold) and quinidine concentration.

なることを述べたが、更にこれを定量的に検するため一定の持続 (3 mSec) をもった直角電流の閾値を測定した。但しその閾値は先行興奮後の時間によって異なる。即ち心筋には一定の不応期がある。不応期の検討は後にゆずり、先ず先行興奮後充分時間を置いた所謂静止期に期外刺激を与えて電気興奮性に対するキニデンの効果を観察した。

期外刺激は径 1mm 銀線に塩化銀づけをしたものを用い、これを標本に近づけて、持続 3 mSec の直角流を加えた。

閾値はキニデン投与によって例外なく上昇する。その濃度との関係を示したものが第5図である。即ち Tyrode 中のキニデン濃度が $4 \times 10^{-6}/ml$ より閾値の上昇が始まりその後キニデン濃度に対し $20 \times 10^{-6}/ml$ までは少なくとも直線的に閾値が上昇する。これらの閾値はキニデンを作用させ充分定常状態になった後の値である。他の3例についてもほぼ類似の結果を得た。

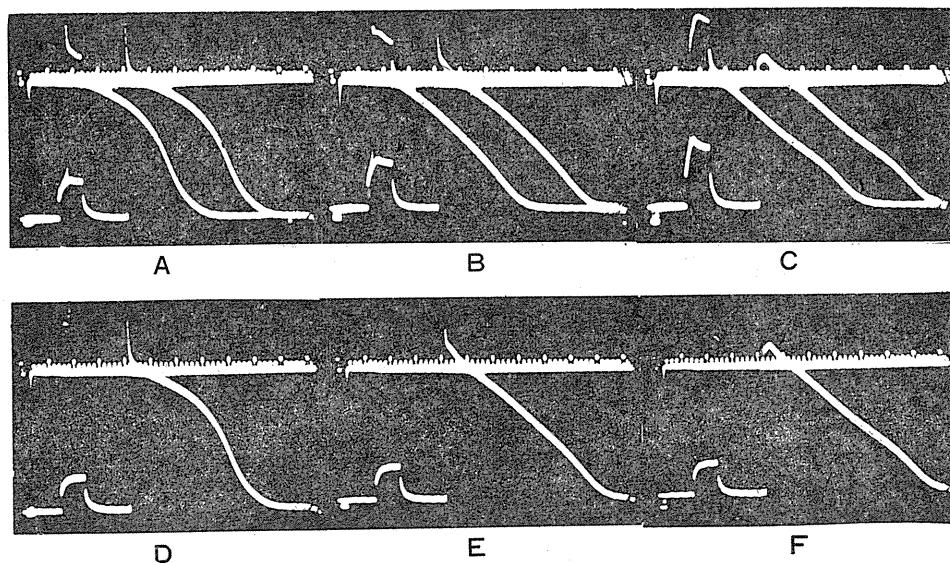


Fig. 6.

The effect of quinidine upon the critical membrane potential (A-C) and the electrotonic potential (D-F). Cellular action potential and critical depolarization by threshold stimulus in A-C. The just in effective stimulus is followed by a conducted action potential. A: control, B: quinidine $5 \times 10^{-6}/ml$, C: $16 \times 10^{-6}/ml$. D-F shows the electrotonic potential produced by a subthreshold current, in the same cell and at the same condition as above respectively. The current strength is the same ($2 \times 10^{-7}A$) throughout in D-F. Time mark, calibration are same as in Fig. 1.

キニデンによる刺激閾値の上昇を更に細胞電位について調べた所見が第6図である。同一の心筋細胞 (Purkinje 型) に極めて接近して (距離約 10μ) 2本の微小電極を挿入し、その一方から直角流 (持続 50 mSec) を通流し他の電極で膜電位の変化を観察する。図の上段は細胞内から細胞外へ通流 (Cathodal) し、閾電流により興奮を触発した時と正に無効であった場合とを重ねて記録してある。Aは Control, Bはキニデンを $5 \times 10^{-6}/\text{ml}$, Cは $16 \times 10^{-6}/\text{ml}$ の濃度に加えた場合である。明らかにキニデンによって spike を触発する所謂閾膜電位 (Critical membrane potential) がキニデンによって低下して (図では上に上って) いる。

	キニデン濃度 $10^{-6}/\text{ml}$	静止電位 mV	閾電流 10^{-7}A	閾膜電位 mV	閾脱分極 mV
A	0	97	3	73	25
B	5	91	3.9	59	33
C	16	88	4.8	43	45

故に膜の電気抵抗は殆んど不変でも閾膜電位の低下、従って閾膜電位にまで脱分極させねばならぬ程度 (閾脱分極) が増加するために刺激電流の閾値が上るものと予想される。事実キニデンによって膜の抵抗そのものは著変を受けぬことは第6図 DEF でわかる。これらはそれぞれ対応する上の図と同じキニデンの影響の下にある状態で閾よりは遙かに低い直角電流 ($2 \times$

10^{-7}A) を通した際の膜電位の変化 (電気緊張性電位) を示したものでその時間的経過及び大きさは何れも殆んど認むべき差がない。

不応期及びそこに於ける興奮性回復曲線に及ぼすキニデンの影響

期外刺激を先行興奮後の種々の時相に加えながら閾値を追求してゆくと不応期に於ける所謂“興奮性回復曲線”が得られる。キニデン作用 ($8 \times 10^{-6}/\text{ml}$) 前後のこの曲線を実験的に求めた3例を第7図に示す。刺激の有効無効は微小電極による細胞電位で判定したのである。図の示す如くキニデンの作用は、(1) 静止期の閾値上昇、(2) 絶対および相対不応期それぞれ延長する。延長率は絶対不応期が最大である。

	絶対不応期		相対不応期		全不応期	
	Control	キニデン	Control	キニデン	Control	キニデン
A	210	390 (+86%)	240	260 (+8%)	450	650 (+44%)
B	140	170 (+22%)	160	180 (+13%)	300	350 (+17%)
C	180	280 (+56%)	160	220 (+38%)	340	500 (+47%)

(単位 mSec)

曲線は相対不応期のある時相で不規則な経過を屢々示すことがあり、Brooks等により、“dip”と呼ばれているがそれはキニデン作用後も同様に認められることは第7図でわかる。

要するに不応期に於いて興奮性の回復が遅れ

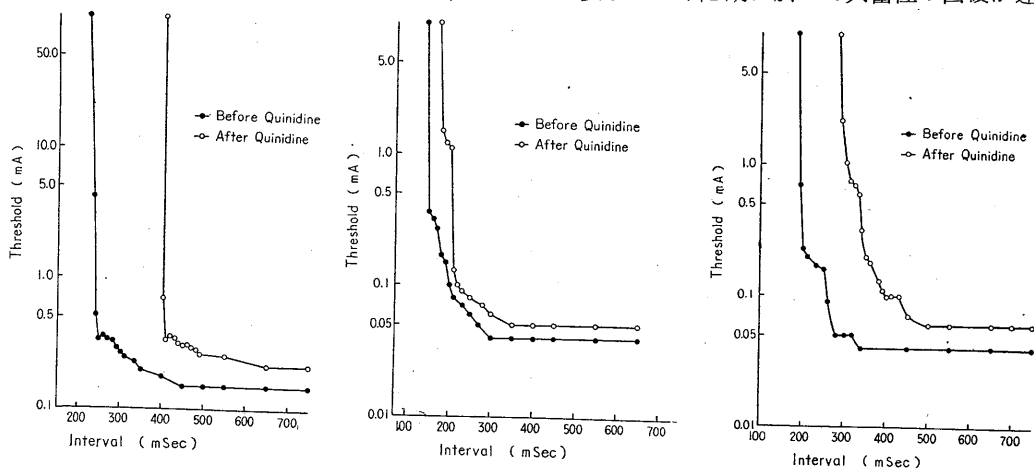


Fig. 7.

The effect of quinidine upon the strength-interval curve of ventricular muscle. A, B and C are different preparations.

ることは明らかなキニデンの作用である。

心筋自動性に対するキニデンの作用

心筋の自動性を特徴づける所謂“歩調取り電位 (Pacemaker potential)”は洞結節、房室結節等に於いて著明であるが本研究に於いては心室筋を対象とするものであるから心室筋の自動性を呈するものを材料に用いた。即ち切出された仮腱索 (房室刺激伝導系の左索枝) は屢々自動性を呈し容易にその歩調取りを求めて Pacemaker potential を観察することが出来る。第8図のAは歩調取りに近い部分の自動性細胞電位であり明らかに静止期の自発的脱分極とそれの spike への移行を認める。Bはキニデン投与 ($6.4 \times 10^{-6}/ml$) 20分後のもので軽度ではあるがリズムは確かに遅くなっている (65/分→50/分)。それに応じて静止期の脱分極速度も低下している。然しその程度は強くなく実験により殆んどこの効果の認められぬ場合も時にはあった。

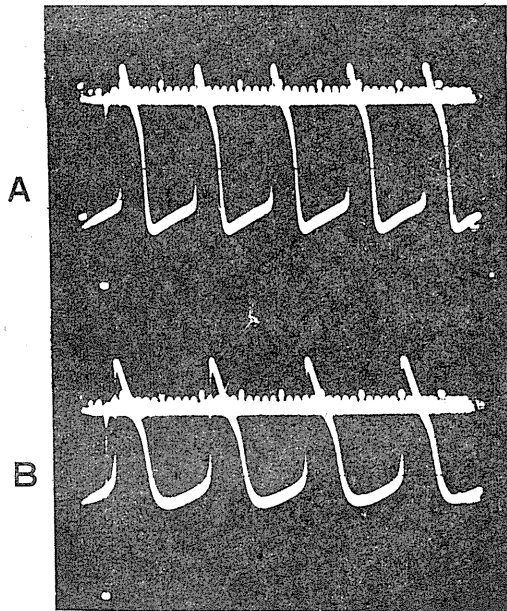


Fig. 8.

The effect of quinidine ($6.4 \times 10^{-6}/ml$) upon the pacemaker potential of the left bundle branch. A: control, B: changes 20 min. after quinidine. Time marks, 100 & 500 mSec., voltage calibration -100mV.

Ⅳ. 考 按

キニデンは期外収縮、心房細動等に有効な心臓の不整脈治療剤として周知であり、その血中有効濃度は $4-9$ (平均 5.9) $\times 10^{-6}/ml$ であるとされている¹⁰⁾。本実験に於いて用いた Tyrode 液中の濃度はそれ以下より以上に互っている。然も心筋細胞電位に変化をおよぼす最低濃度は $4 \times 10^{-6}/ml$ であったことは臨床所見に一致するものである。

キニデンの不整脈防止作用の本態は古来、不応期を延長せしめる点にあるとされている (Lewis & Drury¹¹⁾, Dawes & Vane¹²⁾, Brooks et al.²⁾, その他)。これは疑のないところであって本実験でもそれを確認した。

この他に本実験に於いて明らかにした如く興奮伝導速度を遅くすること及び閾値の上昇も有効に作用するものと考えられる。

伝導速度の遅延に殊に関係ありと思われることは同じく本実験で確かめられたところの活動電位の脱分極速度が著明に低下する事である。活動電位とは隣接部が興奮する事によって形質膜に外向きの電流が流れその結果膜が脱分極して閾膜電位に達するや膜の所謂“break down”が起って spike が生ずるものであるが、膜は電気的には容量と抵抗が並列に分布した、従って一定の時定数と空間定数を有する構造をもつものであるから隣接部の活動電位立上りが緩慢になると膜の脱分極の経過も従って遅れて spike の遅れを来すことは当然である。この上に更に閾膜電位値が低下すれば (閾値の上昇) この効果は一層大となり結局興奮伝導速度が低下することになる。この事情が高度になれば仮令不整 (異所的) 興奮が発生しても早晚伝導はブロックされて衝撃は消失するであろう。

細胞活動電位の脱分極速度がキニデンにより低下する理由は尙充分明らかでない。脱分極は膜の急激な Na 透過性の上昇により急速に細胞内に Na イオンが運搬されて膜電位が逆転する過程であると考えられる。これを営む所謂 Na-carrier がキニデンによって不活性化 (inactivate)

されることが考えられる。Na-carrierの不活性化は膜の脱分極によって起り従って活動電位発生直前の膜電位の函数としてS字状特性を呈することはWeidmann(仮腱索)¹³⁾、松田・星(心室筋)¹⁴⁾等が明らかにしたところであるが、キニデンの作用で静止電位の低下はさほど著しくないにもかかわらず脱分極速度が著明に低下することから見て単なる静止電位低下の2次の結果とはみとめ難いとWeidmann³⁾、Johnson⁵⁾⁶⁾、Williams¹⁵⁾は主張する。更にWeidmannはコカイン、キニゲンにより低下した脱分極速度は通流により人工的に膜電位をたかめると再び正常に近く回復することをみとめている。本実験に於いても同様の事実をみたわけであるが、心室筋に於いては静止電位もキニゲンにより僅かながら常に低下している。故にNa-carrierのみならず正常膜静止電位維持に働いている所謂Na-pumpに対する作用も一応問題となる。但し形質膜の静的電気特性はキニゲン作用時も著変はないことは上に所見として述べた通りである。

電流閾値の上昇は主として閾膜電位の低下によるものであることは本実験の明らかにしたところであるが、この変化の本態も不明ながらNa-carrierの不活性化と考えるのが妥当であろう。

不応期の延長という事実も要するに正常時に於いてもNa-carrier不活性化がspikeに続いて一過性に起るのがキニゲンによって強められ、且つ回復が遅れるということで理解できる。

キニゲンによる活動電位脱分極速度の低下はPurkinje型細胞に比べて心室個有筋細胞たる乳頭筋型細胞に於いては静止電位低下作用と同様にさほど著しくはない事は本実験で新に確かめられたところである。この奇異なる現象の理由も不明という他はないが心室個有筋はWeidmann等によって詳細に研究せられた房室刺激伝導系細胞とは若干静的及び動的電気的特性の差のあることが各種の事実より推定せられているのに関係があると思われる。注目すべき1つの所見であろう。

心室の自動性そのものはキニゲンにより多少の抑制的效果を受けるがそれは極めて軽微であって恐らく不整脈そのものの抑圧にはあまり大きな意義を持つものではないであろう。

V. 結 論

1) イヌの右心室遊離壁標本を用いて心内膜下層細胞の細胞電位に及ぼす硫酸キニデンの作用を実験し次の所見を得た。

2) キニゲンは 4×10^{-6} /ml以上の濃度に於いて軽度の静止電位の減少、活動電位 Overshoot の低下、同脱分極速度の著明な低下、活動電位持続の延長、興奮伝導速度の遅延を来す。静止電位及び脱分極速度への効果はPurkinje型細胞に於いて顕著であるが、個有心室筋たる乳頭筋型細胞では軽微であった。

3) 心室筋の電気興奮性はキニゲンにより低下する。即ち静止期の刺激閾値は上昇する。この理由は主として形質膜の閾膜電位の変化によるもので膜の抵抗そのものには著変がない。心室筋の不応期は絶対及び相対共にキニゲンによって著明に延長する。

4) 心室筋(索枝)の自動性細胞のPacemaker potential に対してキニゲンは軽度の抑制作用を呈する。

5) キニゲンの不整脈抑制作用を細胞電位に対する上述の効果から考察した。

稿を終るに臨み、東京大学生理学教室松田幸次郎教授の御指導と、同星猛助教授及び東北大学医学部応用生理学教室鈴木泰三教授並びに同教室員の御援助に感謝する。

文 献

- 1) Goodman, L. S. & A. Gilman (1956) Antiarrhythmic and antifibrillatory agents, in "The pharmacological basis of therapeutics". The Macmillan, New York, pp. 711-729
- 2) Brooks, Ch. McC., B. F. Hoffman, E. E. Suckling & O. Orias (1955) Fibrillatory and antifibrillatory agents. Ch. IX of "Excitability of the heart". Grune & Stratton, New York & London.
- 3) Weidmann, S. (1955) Effects of calcium ions and local anaesthetics on electrical properties of

- Purkinje fibres. *J. Physiol.*, **129**, 568
- 4) Johnson, E. A. (1956) The effects of quinidine, procaine amide and pyrilamine on the membrane resting and action potential of guinea pig ventricular muscle fibres. *J. Pharmacol. & Exper. Ther.*, **117**, 237
 - 5) Johnson, E. A. & P. A. Robertson (1957) Effect of acetylcholine and quinidine on atrial cellular potential. *Nature*, **180**, 1483
 - 6) Johnson, E. A. & P. A. Robertson (1958) Effect of acetylcholine on the membrane resistance and threshold of atrial muscle fibres. *Nature*, **181**, 910
 - 7) 松田幸次郎・星 猛・亀山重徳 (1956) 哺乳動物心室筋の細胞電位 生体の科学 **7**, 379
 - 8) 桜井 隆・星 猛・亀山重徳・松尾正之 (1956) 哺乳動物心筋膜電位研究用電子回路 生体の科学 **7**, 439
 - 9) 松田幸次郎・星 猛・亀山重徳・草刈兵一郎・桜井 潔 (1958) 細胞電位より見たる心筋の低温耐性 生体の科学 **9**, 21
 - 10) Sokolow, M. & A. L. Edgar (1950) The relationship between serum quinidine concentrations and the prevention and treatment of cardiac arrhythmias. *J. Clin. Invest.*, **29**, 847
 - 11) Lewis, T., A. N. Drury, C. C. Iliescu & A. M. Wedd (1921/22) Observations relating to the action of quinidine upon the dog's heart, with special reference to its action on clinical fibrillation of the auricles. *Heart*, **9**, 55
 - 12) Dawes, G. S. & J. R. Vane (1956) The refractory period of atria isolated from mammalian hearts. *J. Physiol.*, **132**, 611
 - 13) Weidmann, S. (1955) The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium-carrying system. *J. Physiol.*, **127**, 213
 - 14) 松田幸次郎・星 猛 (1958) 心臓特殊筋細胞の電気的活動 —— Pacemaker potential と房室結節の活動電位 —— 呼吸と循環 **6**, 444
 - 15) Vaughan Williams, E. M. (1958) The mode of action of quinidine on isolated rabbit atria interpreted from intracellular potential records. *Brit. J. Pharm.*, **13**, 276

Summary

1) The effects of quinidine sulphate upon the membrane potentials of the ventricular muscle of the dog were studied.

2) Quinidine produces the following effects at concentrations above $4 \times 10^{-6}/ml$: Slight but distinct decrease of resting potential, distinct decrease of overshoot and depolarization velocity of action potential, delay of impulse conduction within the ventricle, and prolongation of the duration of action potential. These effects were not so conspicuous in the ventricular muscle proper as in the Purkinje fiber.

3) The electrical excitability of the ventricular muscle is depressed (diastolic threshold is elevated) by quinidine, chiefly due to the increase of the membrane depolarization necessary to evoke the spike, rather than the change of membrane impedance.

4) The refractory periods, both absolute and relative, are prolonged by quinidine distinctly.

5) The pacemaker activity of the intraventricular specific muscle cells is depressed by quinidine as revealed by slowing of the automatic rate and decrease of the diastolic, slow depolarization velocity, though this effect is not striking.

6) The mechanism of the antifibrillatory action of quinidine is discussed from the standpoint of its effects upon the cellular potentials of the cardiac muscle.

(Department of Applied Physiology, Tohoku University Medical School)

抗コリン剤の側脳室注入時に見られる現象と

脳波について 612.822.54:612.822.3

Effects of Intraventricularly Injected Anticholinesterase and E.E.G.

横 田 力 (YOKOTA-Tsutomu)*

I. 緒 言

薬物が生体内に経口的乃至は経皮的に、吸収せられた結果として惹起される生体の変化、或いは生体が或る種の疾病に罹患した結果として招来された病的な状態を、病態生理学的な立場で生体の変化を観察し追及しようとする、種々の時間的空間的な方法があるといえよう。

近年, Nachmansohn 等の nervous transmission に関する液体学説¹⁾の登場と共に生体の病的状態に acetylcholine (以下 Ach と略す)乃至は anti-cholinesterase (以下 A-Ch-E と略す)の蓄積が関与している事が、次第に明らかとされて来るにつれて、色々の方法を用いてこの際の変化を追及しようとする試みが行なわれている。

或る特定の臓器或いは器官に着目して、その変化を観察するのも1つの方法であろうが、著者はその方法として、一方では薬物注入の前後に於ける病的変化を、中枢性末梢性の全身状態の変化として観察し乍ら、他方ではそれを、その前後に於ける脳波の変化として観察記録し、更に斯くして惹起された状態と類似の病的状態を比較検討した結果として後者の惹起された変化の由来乃至は過程を、或る程度推論的に説明し得るのではないかと思考する次第である。

これを更に具体的に申し述べるならば、大脳の側脳室へ直接薬物を注入し、その際の変化を cinematographical に、或いは photographical に記録し、他方では斯様な状態に於ける脳波の変化を、可能な限り自然の状態に近い環境に於

Diagram of Cannula

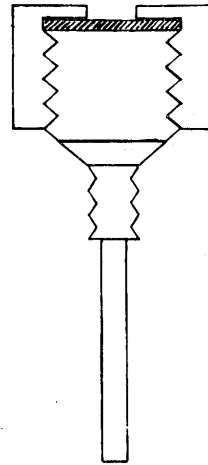


Fig. 1.

Diagrammatic representation of cannula used for intraventricular injection.

いて記録し、それを比較検討した結果として後に述べる結論を得た。

II. 方 法

以前から、大脳の側脳室乃至は第Ⅲ脳室へ、直接薬物を注入する色々の方法が行なわれて来たが²⁾³⁾、麻酔下にせよ非麻酔下にせよ、その注入の際に伴う技術的困難性—即ち、注入時の動物の動き、或いは脳内の他の部分への洩出乃至は傷害による影響等—については、既に1953年に Bedford⁴⁾が指摘した通りである。

そこで、これらの欠点を除く為に、1953年来 Feldberg 其他が試みて来たのは、cannula による方法²⁾である。即ち、不銹であって、しかも生体には非刺激性非毒物性の金属 cannula を用い、これを側脳室へ挿入、半永久的に固定し、非麻酔下でも簡易に薬物を注入する事を可能ならしめたのである。著者は、Feldberg の用いた

* 新潟大学医学部生理学教室 (第1講座 内菌耕二教授)

[昭和34年5月4日受付]

cannula⁵⁾ を参考とし、更にこれに工夫を加えて、使用には出来る限り簡便で確実である様な cannula を作製した (Fig. 1).

実験に使用した動物は、すべて猫 (体重2.3~



Fig. 2.

Photographic representation of implantation of cannula for interventricular injection.

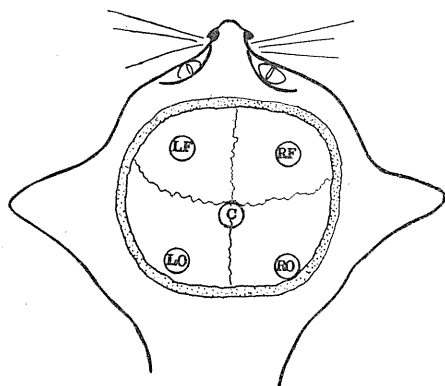


Fig. 3.

Electrode positions for leading of EEG. Five metal electrodes were implanted in the surface of the skull.

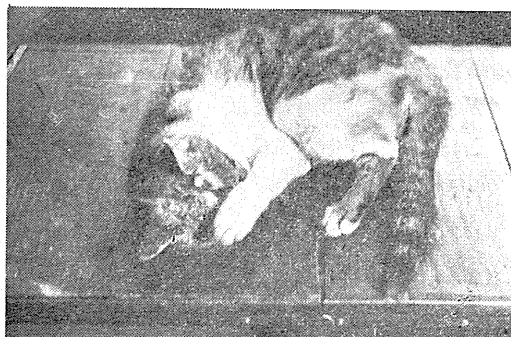


Fig. 4.

Scratch-movement caused by injection of eserine.

3.5kg の成猫) である。

次に cannula 挿入の際の手技を簡単に記述する。麻酔は、主として ether を用い、一部は urethane, ravalon, isozol を使用した。まず猫の両耳の付根の前の部分を結ぶ線上で、約 6~7cm の切開を加え、その線上で正中線より約 6mm の個所に drill で穴を開け、頭頂領に cannula を挿入固定する (Fig. 2). cannula が側脳室へ入ったかどうかは、丁度堀り抜き井戸の水が溢れる様に、脳脊髄液が下からせり上って来る事ではっきり判る。原則として右の側脳室へ挿入したが、失敗例では左側へも挿入した。斯くして cannula を挿入固定された猫は、術後約 1 週間乃至 10 日間で創は癒り、実験に供される様になる。

以上は、薬物注入前後の猫の態度の変化を、巨視的に観察する場合の手技であるが、脳波記録の場合には、多少手技的に異った方法を用いた。

即ち、cannula 挿入時迄は大凡同一手技であるが、頭の皮膚は十字切開により、頭頂骨を中心として頭骨を露出させ、側頭筋は、耳、眼瞼の動きを止めるために、これを全部除去した上で、電極を挿入する。この際の使用電極は、真鍮製の長さ 12mm、径は上 2mm 下 1mm のねじ釘を、そのまま用いてこれをねじ込み、硬脳膜に迄達せしめる。挿入個所は (Fig. 3) に示す様に、5 カ所であり、この中心電極 (C) を焦点として双極誘導法により、4 チャンネル差動増巾器 (三栄測器製 710-207 号) を用いて electroencephalogram (以下 EEG と略す) を記録した。

Ⅲ. 観察並びに結果

A. 巨視的観察

前述の様に cannula を挿入固定した猫は、術後約 1 週間乃至は 10 日間経過すれば、使用出来る様になる。注入した薬物並びに実験例数は、physostigmine (eserine) 6 例, diisopropylfluorophosphate (DFP) 8 例, Ach 6 例, control として Tyrode 液 2 例であり、注入した量は、

0.1cc~0.2cc~0.5cc (濃度は各薬剤により異なる)である (勿論, pressure による影響を避ける為に, 注入量に応じて等量を先に排除する)。

1. eserine, DFP

使用した eserine (physostigmine salicylate) は Merck 社製の試薬で, これを使用 24 hr 前に Tyrode 液に溶かし, その 0.1cc (100 μ g 含有) を注入した。DFP は住友化学製品の注射液で, propylene glycol を溶媒としたものをそのまま用いた (1cc 中 1mg を含む)。DFP の注入量も同様に 0.1cc (100 μ g 含有) である。

eserine, DFP の効果については, 大凡3段階に分けて観察することが出来るが, これらの段階にはっきり分類出来ない移行型の, いわば効果が重複していると思われるものも観察された。

A. 第Ⅰ期 活動興奮期

注入後, 2~5min 後に唇を舐め始め, あくびをする時の様に口を大きく開いたかと思うと急に閉じ, 次に頭, 顔, 口を強く引掻き, 前趾で顔を拭い (Fig. 4) 後趾で顔や顎を蹴ったり引掻いたりし, これらの運動を交互に, 或いは連続的に, 何度も何度も繰返し, 時には上げた爪や趾を舐めたり噛んだりし, またこれに特異なしゃっくり様の嚥下運動が伴う。流涎は常に見られ, 催涙も時に見られる。この時期の頂点は, 前述の運動が絶え間なく続く数分間で, 時には十数分間も続く事がある。こうした特異な“引掻き運動”が, 5~10~30min 位続いたあと, 急に猫は不意に硬化した不恰好な運動乃至は姿勢をとる様になり, 次の段階に移行する。

B. 第Ⅱ期 遅鈍期

四趾の屈筋の緊張が増し, 歩き出そうとする時に急に低く蹲まる様な姿勢をとり, よたよたと不恰好な歩き振りの後に, 急に横たわろうとしたり, 或いは後趾が屈曲しているのに前趾は伸びたままであり, 歩き出そうとする時に, 臀部を持上げずにそのまま動かそうとしたり, 又動かそうとしても趾が恰も膠で張りついたかの様になって, 随意に動かすことが出来ず, 動かし得てもせいぜい引きずる程度である。こうし

た運動の間にも, 時折“引掻き運動”を起す。20~30min 後になると, 耳, 頭, 肩の細かい震えと, 四趾の振顫が見られ, 又呼吸時の唸り, 喘鳴や呼吸数の増加, 呼吸困難が見られる。又周囲の物音や光に対し, 非常に「怖れ」「怒り」を示す様に見えるが, 運動は鈍くて素早く逃げようとはしない。数例では, 排便, 排尿, 嘔吐が見られた。こうした状態は 30min 以上続くが, これに次いで動作はより緩慢になり, 睡たげな様子を示し, じっと眼を閉じて蹲まったままの姿勢をとる様になる。

C. 第Ⅲ期 麻痺期 (catatonia 様昏迷期)

この時期は, catatonia の徴候による麻痺状態の, 連続的進展から成り立っている。この変化は, 前に述べた2つの時期の後にやって来るもので, 数時間は存続するが, その始まりは既に相当初期に気付く。猫が未だ引掻き運動をやっている間に, ほんの暫くの間だけ覚醒状態が中断したかの様に見える時期がある。即ち, この状態は最初はほんの一過性の 1~2sec のものであるが, 猫はまるきり周囲には気付かぬように振舞い, これが次第に長くなり数秒間にも増す。この状態は, 人間に於ける absence に似ていて, これと関連性がある様に思われる。眼は半分閉じるか, 完全に閉じてしまい, 頭は静かに前の方へ下げてい。騒音に対し, 耳をびくびく動かして応え, 又睡っている様に見え乍ら時折眼を丸く開く。猫が歩き出そうとすると, その歩き方は非常に緩やかであり, 数歩歩くと坐り, その身振りの緩慢さは, 高速度撮影の映画か, 歌舞伎の舞台での演技を眺めている様である。一般に, 平衡感覚や反射運動が鈍麻している様で, 猫を台の上においたまま, 静かにゆっくりと持上げて行き乍ら急に下すと, 暫くの間は体を持上げる様な様子を示して, それから徐々に体を沈める様にして横たわろうとする。又, 不自然な姿勢を執っても, 相当の長い時間, そのままの位置を保っている。若し前趾の1つを後へ廻して背中中で組む様にさせると, この姿勢のまま 1~3min 位保っていて, この経過中猫は元の普通の位置に戻す様に企てて, 徐々に

背中へ廻した前趾を動かすが、その途中の異常な位置で、約10~15secも止まっている (Fig. 5). 又 Fig. 6 は歩き出そうとして、誤まって前趾を踏み外しても、そのままの姿勢で3min間も保っているところを示す. Fig. 7 は、両前趾を棧に掛けたままの位置で、これは実に 1 hr 以上にわたってこの位置を保っていた例を示す. 又、この期間の運動の不器用さ、緩慢さは、Fig. 8 (A)

が示す様に、後趾の片方が引掛っても、これを外すことが出来ず、この姿勢でも 5~15min 間保っていた. Fig. 8 (B) の様に、両後趾を棧にかけた場合も、この不自然な位置で、10数分以



Fig. 5.

Catatonia-like phenomena caused by injection of DFP (above) and eserine (below).

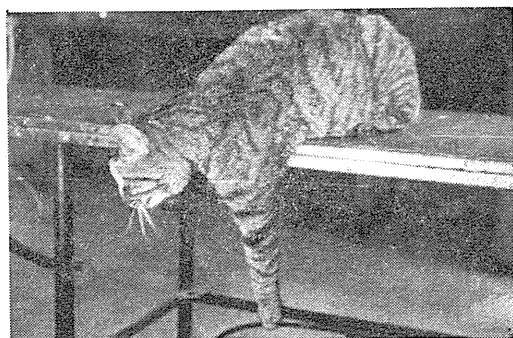


Fig. 6.

Catatonia-like phenomenon caused by injection of DFP.

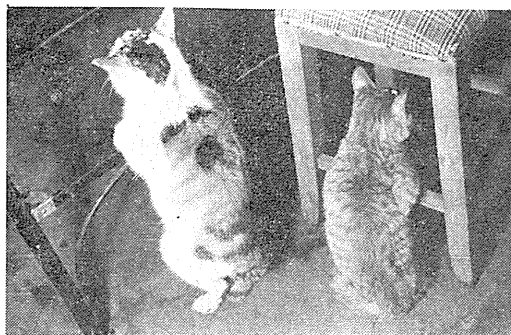


Fig. 7.

Catatonia-like phenomena caused by injection of DFP (right) and eserine (left).

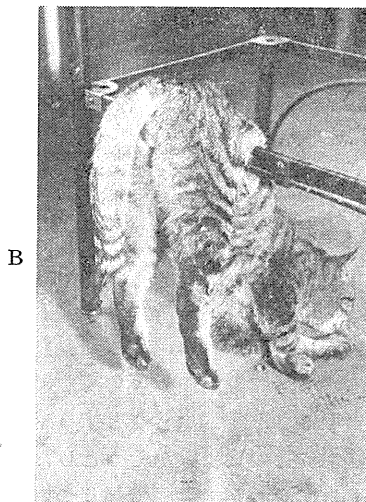
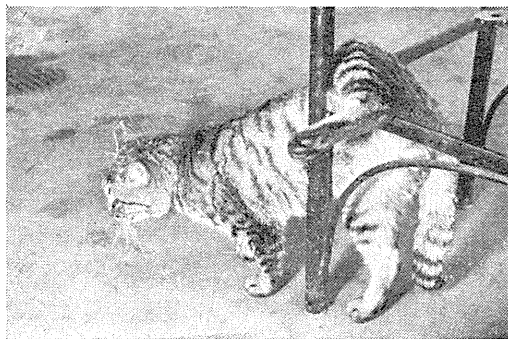


Fig. 8.

Catatonia-like phenomena caused by injection of DFP.

上も同一姿勢を保っている。斯うした運動の経過中も、猫は唸りや鳴き声を出し、尻尾を振る事によって、噴りを現わしている様であるが、他のすべての防禦的な動きは abortive, 且つ

absentであり、或いはこれらの動作の進行中に交互に現われる様である。これら前述の状態の猫の趾は、ぐにゃぐにゃしてもいなければ、突張ってもいなくて、受動的運動の抵抗は一樣で

あり、この感じは人間に於ける waxy flexibility に似ているといえる。既述の様に、猫は能働的運動は一切行なわないが、決して弱っている訳ではなく、勿論歩くことが出来るし、跳躍運動さえもやらせれば可能であるが、一般には実験室或いは実験箱の隅の方へ引き退って、坐るか横たわるかして、眼は半分又は殆んど閉じている傾向が多い。

以上述べ来たった薬剤注入後の変化は、eserine に於いても、DFP に於いても略同様に観察されるが、前者ではより第Ⅰ期の“引掻き運動”が著明であり、後者では更に第Ⅲ期ではっきり現われる absence 様発作が、

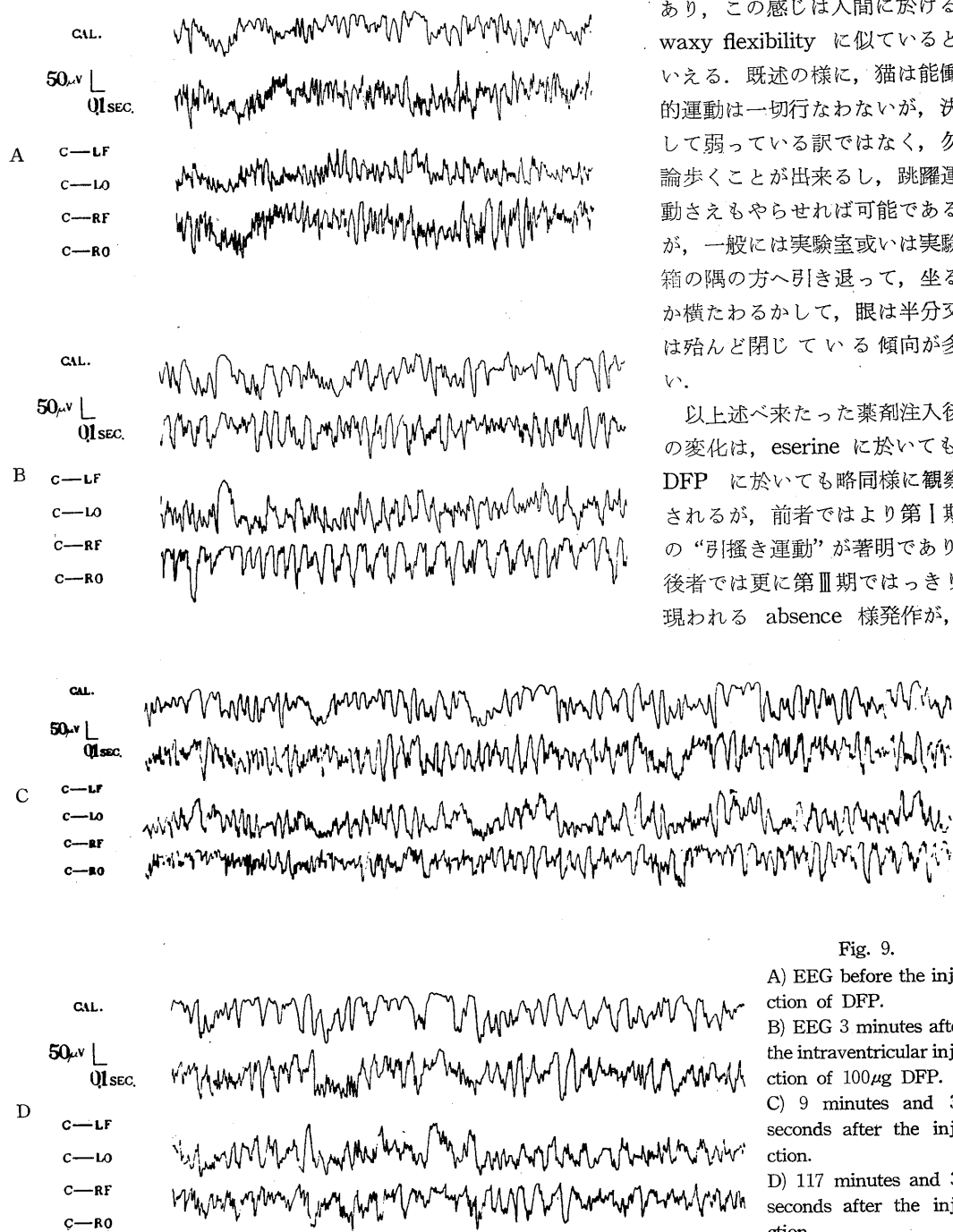


Fig. 9.

A) EEG before the injection of DFP.

B) EEG 3 minutes after the intraventricular injection of 100μg DFP.

C) 9 minutes and 30 seconds after the injection.

D) 117 minutes and 30 seconds after the injection.

より早期に且つ長く出現し, catatonia 様の徴候はより著明で長く続くといつてよい。

eserine, DFP の大量 0.5cc (500 μ g) を用いた各 2 例では, その効果は極めて激烈で, 呼吸困難, 喘鳴, 流涎が甚しく, 全身痙攣が起り, 且つ不自然で不恰好な姿勢で, しかも物凄い速さで出鱈目に走り廻り, DFP を使用したものは, 数時間後に死に到った。

2. acetylcholine

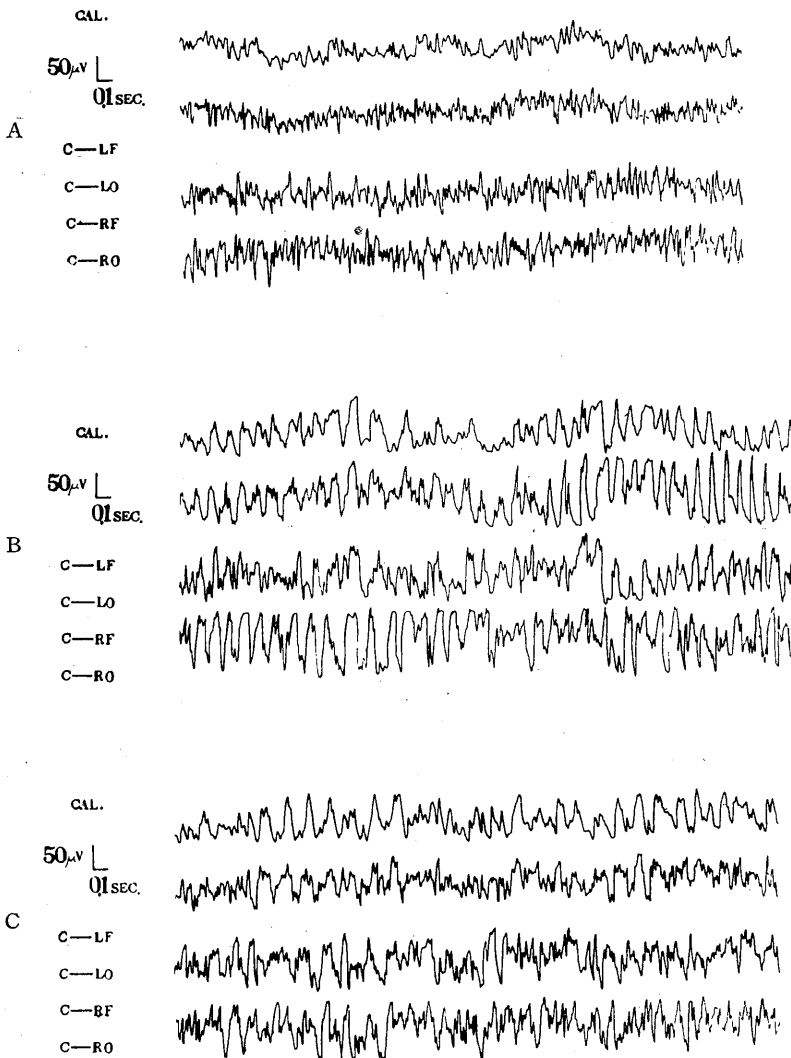


Fig. 10.

- A) EEG before the injection of DFP.
 B) EEG 8 minutes after the intraventricular injection of 200 μ g DFP.
 C) EEG 60 minutes after the injection.

使用した Ach は, 関東化学製の試薬であり, Tyrode 液を溶媒とした。

比較的小量 (10 μ g) の注入では, 数分後に嘔気, 嘔吐が見られ, 時折り不規則な“引掻き運動”が見られるが, A-Ch-E, を使用した時の様に著明ではない。

500 μ g~1mg の大量注入の際には, 1~2min 後に全身の痙攣が起った。即ち, 小さい痙攣を繰返し乍ら始まり, 髯や耳や頭や肩を素早く震わ

せ乍ら, 次第に全身に大きな痙攣がやって来る。瞳孔は丸く大きく開いている。

ある猫では, この痙攣発作が何度も繰返して起り, ぐるぐると物凄い速さで走り廻っているかと思うと, 急に止り, 又次の発作が引き続いて起って来る。この様な発作を何回か繰返した後, 時間的には注入後 20~30min 後には, 深い昏迷期に入り, 前述の第Ⅲ期 catatonia 様の姿勢を, 長時間にわたって保つのである。

3. Tyrode 液

control 実験として, Tyrode 液 0.3cc を注入して, その後 2hr にわたって変化を観察したが, 何等異常な反応は見られなかった。

B. 脳波記録

EEG を記録する際に, 出来る限り生体の生理的狀態に近い

ものを取りたいのは、誰しもが希うところである。種々の誘発電位を防ぐ方法として、人工呼吸器の併用による筋弛緩剤の使用、或いは頸椎の切断などの方法によって、脳を isolate する

事が一般的に行なわれているが、著者は猫を安静状態に置いて、EEG を記録する事を試みてみた。勿論、猫族一般の属性から考えて、その安静状態を作り出すことはなかなか困難である

が、猫にも夫々の個性の差が相当にあるので、大人しい猫であれば、安静状態を作り出すことも不可能ではないといえよう。猫を固定器に入れ、或いは固定台に緊縛した上で、前述の様に頭蓋骨を露出させ、電極、cannula の挿入固定の手技を行うが、この際の麻酔には ether を使用した。この麻酔薬の種類であるが、即ち皮質性か或いは脳幹性かによって、EEG の波形に差異が現われる⁶⁾ことは既知の

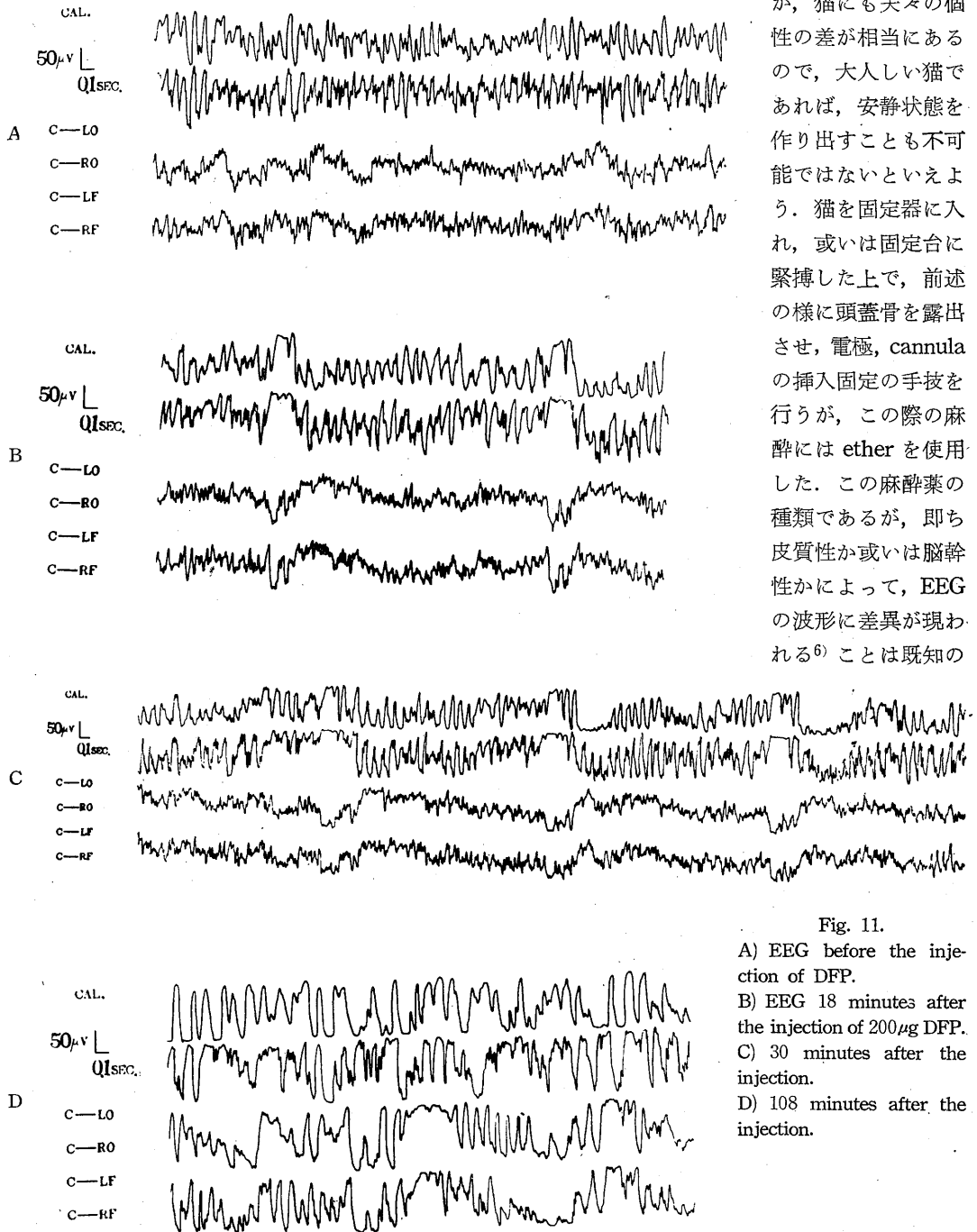


Fig. 11.

A) EEG before the injection of DFP.

B) EEG 18 minutes after the injection of 200 μ g DFP.

C) 30 minutes after the injection.

D) 108 minutes after the injection.

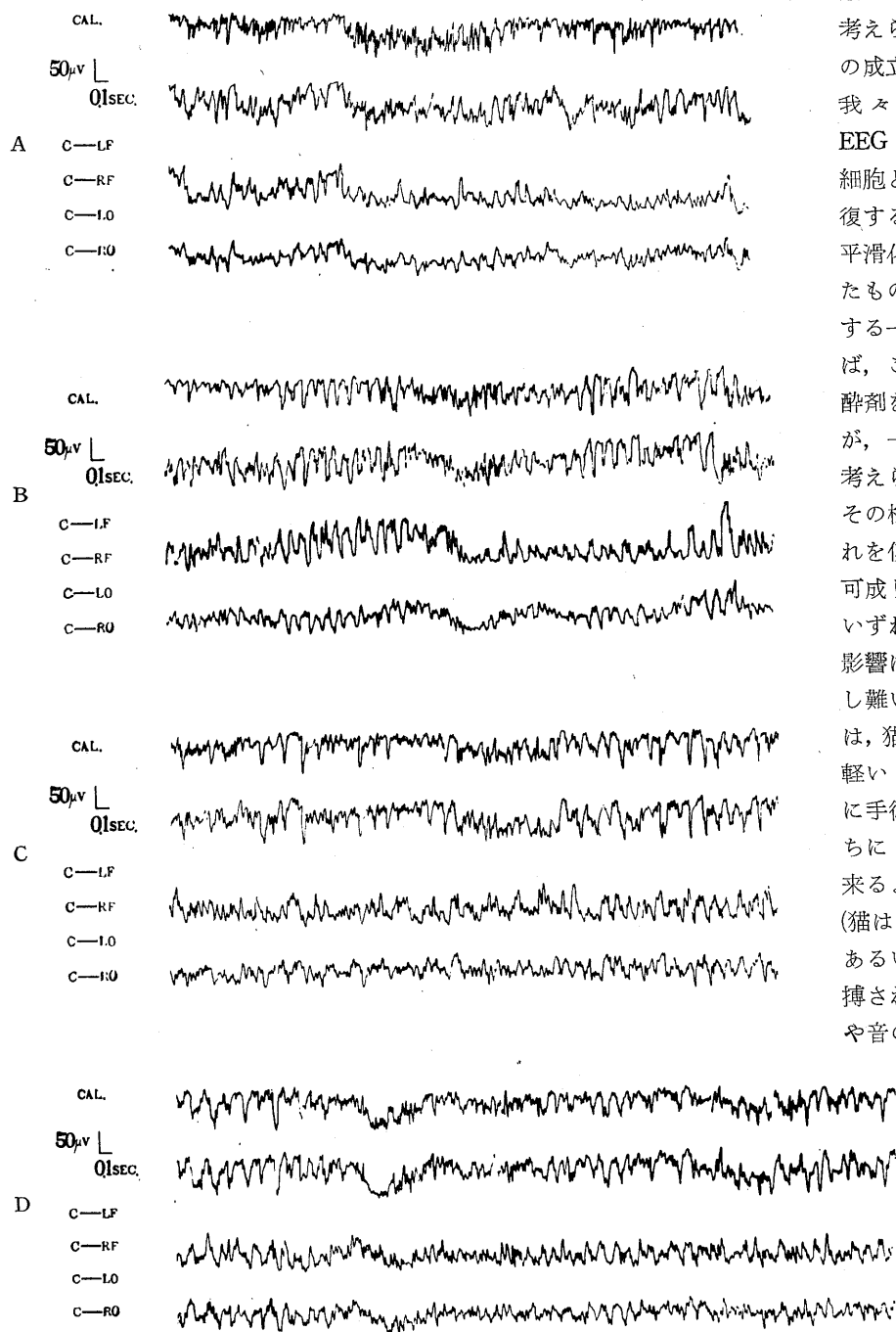


Fig. 12.

- A) EEG before the injection of eserine.
 B) EEG 27 minutes after the injection of 100 μ g eserine.
 C) 83 minutes after the injection.
 D) 99 minutes after the injection.

通りである。これ迄考えられているEEGの成立機転一即ち、我々が普通にみるEEGは恐らく神経細胞と神経線維の反復する衝激活動の、平滑化され合成されたものであろうと一から考えれば、この際脳幹性麻酔剤を使用した方が、一応適當の様に考えられるし、事実その様に解釈してこれを使用した報告も可成り多数あるが、いずれにしてもその影響は完全には排除し難い。そこで著者は、猫を実験前日に、軽い ether 麻酔の下に手術した上で、直ちに EEG を記録出来るようにしておき(猫は固定器に入れ、あるいは固定台に緊縛された状態で、光や音の刺激による

evoked potential を出来るだけ避ける様に、暗い静かな shieldroom に入れておく) 12~18 hr 以上の経過後の翌早朝時に、猫の安静状態を見計って記録した EEG を control とし、その後側脳室へ薬物を注入し、その際に起る種々の変化、すなわち salivation, tachypnea, incontinentia, defaecation etc. を観察し乍ら、その間の安静状態—とはいっても一種の拘束状態乃至は拷問状態である事は確かであるが—その動きと動きとの間の、安静状態の EEG を記録した。勿論、僅かの動きが artifact 或いは evoked potential として記録されるのであるが、薬物注入前後の変化を、1つの傾向として観察する事は、十分可能であると考える。

ここに報告する脳波記録は、主として DFP を多数例(15例)に使用したもので、eserine については(6例)、Ach は(4例)を観察記録した。これは、DFP よって起る Cata-tonia 様昏迷状態が、eserine のそれに比して著明且つ長く続くので、検討に便利であろうと思考したからに他ならない。

脳波誘導方法としては、Fig. 3 の様に、5個の電極のうち、頭頂領中心電

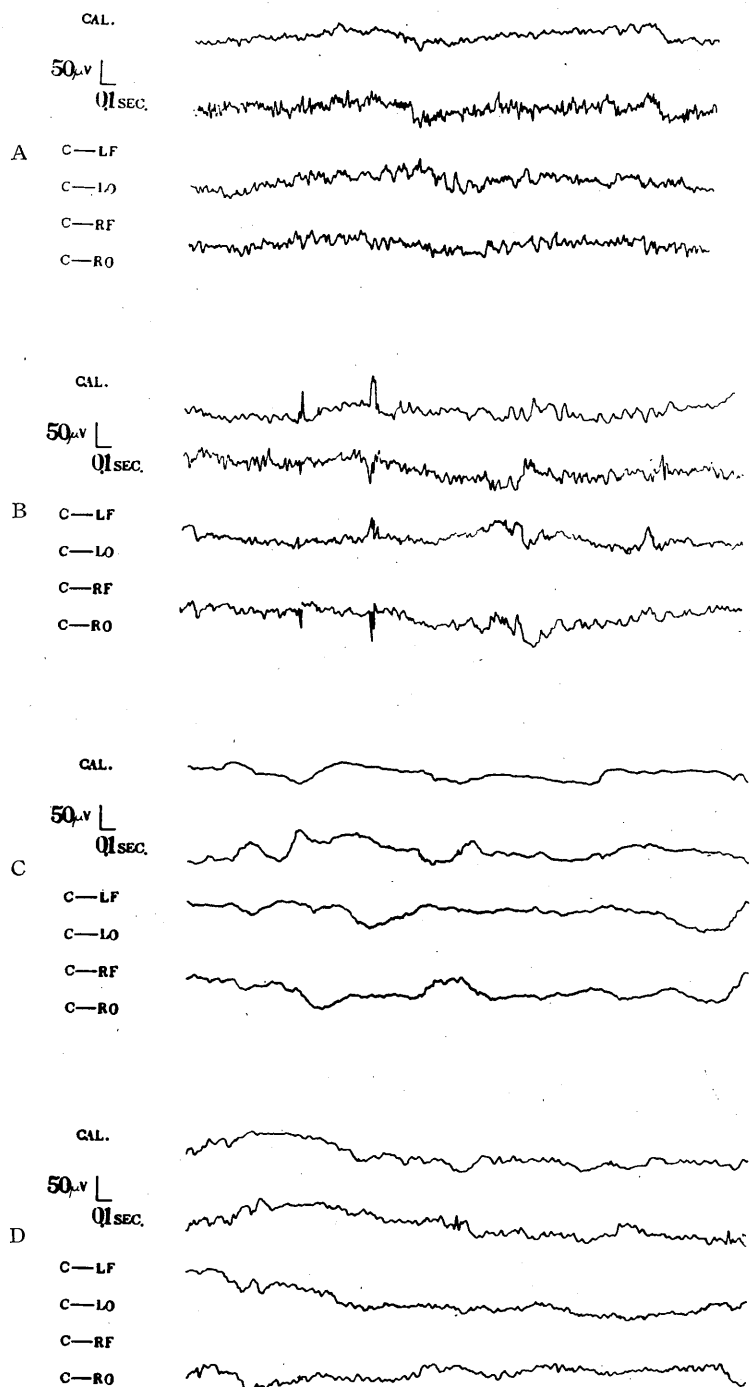


Fig. 13.

A) EEG before the injection of Ach.

B) EEG 4 minutes and 30 seconds after the injection of 500 μg Ach.

C) 88 minutes after the injection.

D) 93 minutes after the injection.

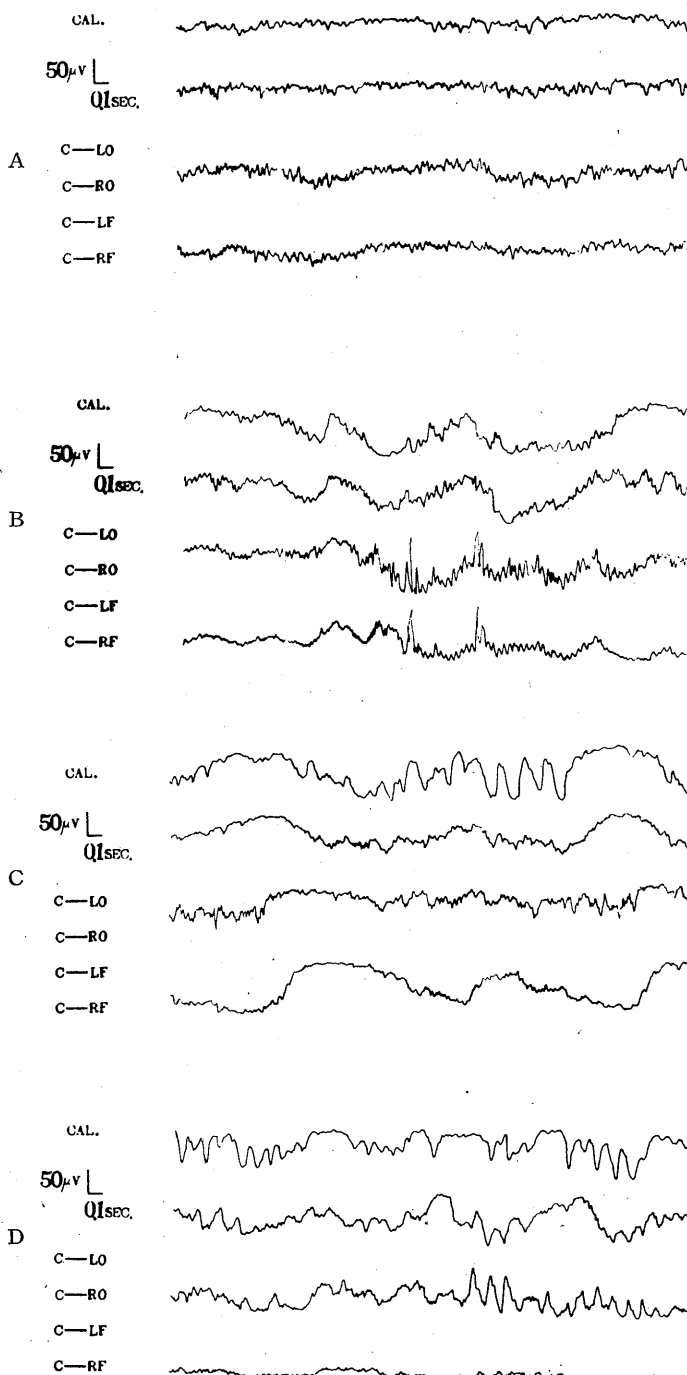


Fig. 14.

- A) EEG before the injection of ACh.
 B) EEG 1 minutes after the injection of 1 mg ACh.
 C) 42 minutes after the injection.
 D) 84 minutes after the injection.

極を焦点 (C) として, C-LF, C-LO, C-RF, C-RO および C-LF, C-RF, C-LO, C-RO, この逆の C-LO, C-RO, C-LF, C-RF の順序により誘導記録し, 前者は, 主として脳の前頭部と後頭部との比較, 後二者は, 主として脳の左右の変化を比較するに便ならしめた.

Fig. 9~Fig. 14 に示したのは, 数多くの脳波記録のうちの極く一部であるが, 勿論, 既知の如く, 脳波は正常の場合に於いても, その波形は種々様々であり, 一定の pattern を示すなどという事は, 到底, 可能な業ではないが, 多数例の記録の結果を概括すれば, 大略, 次の様な傾向が認められる.

1. DFP注入後の EEG に於いては, flat-topped wave が数分後から数十分後に到る迄, 規則的に反復して発現する場合があるが, (Fig. 9 (C), Fig. 11 (B), Fig. 11 (C)), 大多数例では, 5~7/sec 位の高振巾の波が, 不規則的に発現し, その間に低振巾の速波が混在している (Fig. 9 (B), Fig. 10 (B), Fig. 10 (C)). 徐波の振巾の大きさは, 時間の経過と共に大きくなる傾向が見られ, 混在していた速波は殆んど見られなくなる (Fig. 9

(D), Fig. 11 (D)). 部位的には、前頭部よりも後頭部に、先に振巾の大きい徐波が発現する場合もあるが (Fig. 11 (B), Fig. 11 (C)), 大多数例では部位的な特性よりも、寧ろ時間的経過による変化が著明に認められる。

2. eserine 注入後の EEG は、8~12/sec 位の比較的高振巾の波がみとめられる場合があるが、(Fig. 12 (C), Fig. 12 (D)) DFP のそれに比して部位的にも時間的にも変化は著明ではなく、且つ、徐波の上に速波が重畳しているのが特徴的である。

3. acetylcholine 注入後の EEG に於いては、比較的低振巾の徐波が、不規則的に発現するが、その間にしばしば棘波が認められ (Fig. 13 (B), Fig. 13 (D), Fig. 14 (B)), 数十分後には脳の左右両側の同期性が見られなくなる場合がある (Fig. 13 (C), Fig. 13 (D), Fig. 14 (C), Fig. 14 (D)).

IV. 考 察

anticholinesterase は、大別して reversible なものと irreversible なものとに区別出来る。前者は、その化学構造式中に、普通4個の nitrogen を有するが、3個のものもある。eserine (physostigmine) (Fig. 15) は、3個のNを有しているが、この群 (aminophenol 及び aminomethylphenol) の中では、4個のNを持つものより、より強い cholinesterase inhibitor であり⁸⁾ 且つ作用物質の構造の中へ透入し得るが、4個のものでは比較的 inaccessible であるといわれている⁹⁾。irreversible なものは、その特徴として、作用が長時間にわたって持続すること、及び、化学構造式からみて、Achとの関連性を見出す事が困難であること、更にこれらの群に phosphate か、thiophosphate 構造を有すること、等が挙げられる⁹⁾。Fig. 16 に示す様に、DFP は、この群の phosphate ester の代表的なもので、その化学作用は Fig. 17 の如く、X-P bond が切断し、X基が cholinesterase と結合する結果、inhibit すると考えられて居り⁹⁾、DFP に於いては、Xに相当するものがFであ

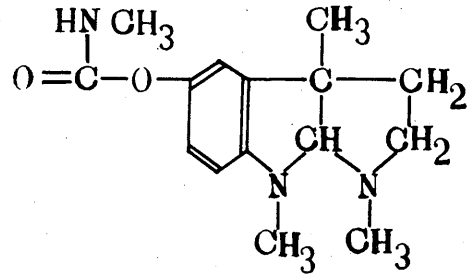


Fig. 15. Physostigmine (eserine).

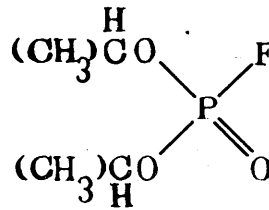


Fig. 16. Diisopropylfluorophosphate (DFP).

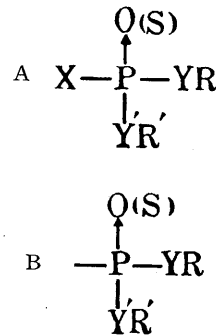


Fig. 17.

り、HF は加水分解によって生ずると考えられている。

巨視的観察の項で述べた様に、eserine 並びに DFP 注入後に起って来る、特異な“引掻き運動”に関しては、既に Feldberg⁵⁾が、これを「かゆさ」から起るものと推量して、種々考察し報告しているが、著者の観察では、この“引掻き運動”を直ちに「かゆさ」から来るものとは断じられない点があり、且つ、Feldbergの使用したのは、eserine sulphate であるのに反して、著者の用いたものは eserine salicylate であり、DFP に関しては、その溶媒たる propylene

glycol に DFP の作用を modify する様な効果があるらしい⁵⁾等の点から考えると、これらの薬物の薬理作用の相異も考慮しなければならないので、この点についての考察は、別の機会にゆずることにしたい。第Ⅱ期から第Ⅲ期にかけて起る現象、即ち、遅鈍期から麻痺期に至る奇妙な失調性姿態、更に catatonia 様昏迷状態は、eserine, DFP の大量 (100~200 μ g) を用いた時に著明に見られ、特に DFP の使用に際して、第Ⅲ期の発現がより強く、且つ長く続くという点は、前述の化学反応から考えて、十分了解し得よう。この遅鈍期から麻痺期に至る状態は、最初活動力の一般的減少として観察され、次いで、猫自身にとっては、必らず不愉快極まりないと思われる、不自然な姿勢から脱離しようとはしない状態に入るに及んで、catatonia 様昏迷状態は、その極に達する。巨視的観察の項に詳述した様に、この際の筋肉の緊張状態は、一見非常に硬い様に見えるのであるが、意外に柔らかく、恰も waxy-flexibility の如くであり、しかも motor activity が減少している状態が続いている間に、知覚状態の変化が何度か起っている様に思われ、absence 或いは stupor 更には catatonia に至る間に、illusion や hallucination もあるかのように見受けられ、これは恰も、人間に於ける automatism の psychomotor seizure といわれるものの category に、極めて類似しているのではないかと思われる。この様な現象の由来としては、結局、側脳室周辺の灰白質部に、acetylcholine の蓄積、乃至は cholinesterase の分解が招来された為に、起ったものとするのが妥当であろう。

psychomotor seizure の特徴は、一言にしていえば、周囲に対して無意味な行動をする事である。この発作中、脳波には異常をみるのが普通であると考えられて居り、Gibbs¹⁰⁾ は長く連続する 5~7/sec の梯形波 “flat-topped wave” が見られる、と述べている。Fig. 11 (C) は、DFP 200 μ g 注入後30分頃に続けて観察記録された flat-topped wave の1例であるが、この例では、左右の後頭部誘導に規則正しく8個が

繰返し現われて居り、前頭部の誘導にもこれに対応して徐波が認められ、またこれらの EEG の前後の経過にも、不規則的に梯形波様波形が相当数認められる。又、多くは 3/sec の高振巾の δ 波、あるものは 5~7/sec の Gibbs のいう θ 波、あるものは sharp wave や spike が見られ、それが片側に優勢が限局していることもあるという。Fig. 13, Fig. 14 は、Ach 注入の1例であるが、これは注入後数分してから spike が現われ、これがずっと後に到る迄時折現われ (Fig. 13 (B), Fig. 14 (B)) 更に数十分後には、脳の左右の同期性が見られなくなる事が観察される (Fig. 13 (D), Fig. 14 (C))。

また、あるものでは α 波とあらゆる種類の異常波が混在している場合もあり、また、少数の例では、特に発作の初期には、殆んど異常が見られず、せいぜい前頭部に限局した低振巾の異常波が認められる位に過ぎぬこともある、という。

この様に、psychomotor seizure の波形には、実に種々の種類があり、換言すれば、「psychomotor seizure には特殊な波形はなく、この発作の間に出るどの異常波をも“精神運動発作波”と呼ぶべきではない」(R.S.Schwab⁶⁾) という見解に従うならば、著者の catatonia 様昏迷状態の猫の EEG も、又何等その特異性を有するとはいえないのであるが、逆に寧ろ、この非特異性を以て、人間の psychomotor seizure との類似性を想像し得る、といつては過言であろうか。ここに於いて、1952年 Sherwood¹¹⁾ が、精神分裂病患者の catatonia 様昏迷に対し、試験的治療として cholinesterase を側脳室内へ注入して、これを治療せしめたという事を想起するのは興味深い。

次に、睡眠波との明らかな相異を考察してみると佐藤¹²⁾等¹³⁾が述べている様に、睡眠過程に伴う脳活動の変化は、大脳の各部で違った程度に進んで居り、後頭部では最も強く進んでいるという。即ち、うとうとし始める時には、先ず後頭結節附近 (恐らく主に17野、有線領、視覚印象野) に於ける脳波活動の方が、頭頂部に近

い後頭部の附近（恐らく主に18野，19野，視覚記憶野）に於けるそれよりも早く消失し，眼覚める時には，丁度この逆の順に α 波活動が恢復する事を併せ考えると，睡眠過程が進むにつれて，大脳皮質の広い範囲にわたって，抑制過程が拡って行くことが予想されてもよいのである。これに対し，absence，或いはstupor，更にはcatatonia状態にある猫のEEGには，前頭部と後頭部との間の部位的差異が，時間的にははっきり認められる例もあるが（Fig. 11 (B)），大多数例では寧ろ時間的経過のうちに於ける，種々の振動数と振巾を持つ波形の発現の仕方に特徴がある。即ち，振動数の少い（3~7/sec）振巾の大きい（50~100 μ V）徐波が，振動数の多い（17~23/sec）振巾の小さい（10~30 μ V）速波の間に，規則的に（Fig. 11 (C)）或いは不規則的に（Fig. 9 (C)，Fig. 10 (C)，Fig. 12 (B)）出現する。又，AChの場合の様に，脳の左右両側の同期性が失われて来る例も観察記録され，これ等は，大脳内部の睡眠過程とは，全然異った興奮過程にある事が想像される。

Fig. 12 に示す様に，eserine 注入後の EEG には，DFP のそれに認められる様な，梯形波 flat-topped wave，或いは高振巾の徐波の出現が余り著明に見られず，時間的経過に於いても余り変化が認められないのは，前述した様に，両者の化学反応様式の相異，即ち，eserine は一時的に esterase を不活性化するのみであるのに反し，DFP が esterase を殆んど別のものに置換してしまう。という作用の相異と考えてよいのではなからうか。

V. 総括並びに結論

猫の側脳室へ，anticholinesterase (eserine, DFP) 並びに acetylcholine を注入し，その後起る変化を巨視的に観察し，他方これを拘束状態ではあるが，非麻酔下に EEG として観察記録して，次に述べる様な結果を得た。

A. 注入後，数分から十数分間続く特異な引掻き運動が見られ（第一期，活動興奮期），次いで奇妙な失調性姿態をとるようになり，その間

absence に似た状態も観察される（第Ⅱ期，遲鈍期）。更に catatonia 様運動で特徴づけられる stupor 状態に入り，これが数時間以上にわたって観察される（第Ⅲ期，麻痺期）。

B. 脳波所見

1. DFP：数分後から数十分後迄，梯形波様の徐波が規則的に発現する場合もあるが，大多数例では 5~7/sec 位の高振巾の徐波が不規則的に発現し，その間に低振巾の速波が混在している。部位的差異はそれ程著明でなく，時間的差異が著明に認められ，数十分後には高振巾の徐波が不規則に連続する事が多い。

2. eserine：DFP の EEG と比較して，部位的にも時間的にも変化はそれ程著明でないが，比較的高振巾の徐波が不規則に発現し，且つ，この徐波に小さい速波が重畳しているのが特徴的であり，これらは DFP と eserine との化学反応の仕方の相異と考えられる。

3. acetylcholine：比較的低振巾の徐波が，不規則的に発現し，その間に時々棘波が認められ，数十分後には，脳の左右両側の同期性が見られなくなる場合がある。

C. 以上の結果から，大脳内部の側脳室周囲の灰白質部に，acetylcholineの蓄積，並びに，cholinesterase の抑制，分解が起り，睡眠過程とは全然異った興奮過程を辿っている事が想像され，人間の精神運動発作と，種々の点で類似性を有している事が注目される。

稿を終るに臨み，御指導並びに御校閲を賜った内齒耕二教授，並びに終始実験に御協力下さった宮野幸吉氏，高橋久仁男氏に心からの感謝を捧げると共に，併せてカニューレ及び電極作製に御助力下さった小林庄一教授，国原広二氏，内山文雄氏及び新島旭助教授始めお世話になった教室員諸兄姉に深謝致します。

文 献

- 1) Fulton, J. F. (1955) Textbook of Physiology. 192-204, 17 th Edition.
- 2) Feldberg, W. and S. L. Sherwood (1953) A permanent cannula for intraventricular injections in cats. J. Physiol. **102**, 3-4P
- 3) Feldberg, W. and S. L. Sherwood (1954) Injections of drugs into the lateral ventricle of the cat. J. Physiol. **123**, 148-167

- 4) Bedford, T. H. B. (1953) The absorption of histamine from the subarachnoid space of the dog. *J. Physiol.* **120**, 62-63P
- 5) Feldberg, W. and S. L. Sherwood (1954) Behaviour of cats after intraventricular injections of eserine and DFP. *J. Physiol.* **125**, 488-500
- 6) 本川弘一 (1947) 脳波 129-134 南條書店
- 7) Schwab, R. S. (1951) Electroencephalography in clinical practice. London. W. B. Saunders Co.
- 8) Stedman, E. and Ellen Stedman (1931) Studies on relationship between chemical constitution and physiological action. III. The inhibitory action of certain synthetic urethanes on the activity of liver esterase. *Biochem. J.* **25**, 1149-1167
- 9) Goodman, L. S. (1955) The pharmacological basis of therapeutics. (Textbook) 444-469
- 10) Gibbs, F. A., E. L. Gibbs, and W. G. Lennox (1938) Likeness of dysrhythmia of schizophrenia and psychomotor epilepsy. *Am. J. Psychiat.*, **95**, 255-269
- 11) Sherwood, S. L. (1952) Intraventricular medication in catatonic stupor. *Brain*, **75**, 68-75
- 12) 佐藤謙助 (1957) 脳波からみた脳の「変換機能」について 神経研究の進歩 **5**, 103-125
- 13) Sato, K., K. Mimura, T. Ozaki, Y. Yamamoto and S. Masuya (1957) On the "transforming action" of the brain shown in the brain wave. *Jap. J. Physiol.* **7**, 181-189

Summary

The effects of anticholinesterases of the behaviour and EEG were observed in cats.

1) Eserine and DFP were injected into one of the lateral ventricles of the unanaesthetized cat through a cannula permanently implanted in the skull.

2) On the effects of eserine and DFP from 100 μ g to 200 μ g injected intraventricularly.

Three stages could be distinguished. During the first stage the cat had the appearance of severe itching as evidenced by intense scratch-movement. The second stage was characterized by reduction of active movements of animals. Between the movements absence-like phenomena were frequently observed. The third stage consisted of an alteration of awareness and stupor which developed to catatonia.

3) The effects on the EEG of eserine, DFP and Ach injected intraventricularly were observed. Several minutes later the injection of these drugs, the slow waves with high amplitudes among the fast waves began to be observed. These slow waves appeared regularly after the injection of DFP, unlike the results obtained by the use of other drugs. Further, in early stage these slow waves recorded from occipital region. In later stage, the differences of slow waves in both regions could not be distinguished.

4) Soon after the injection, slow waves with relatively low amplitudes were often observed, especially by the use of Ach. Several tens minutes later, desynchronization of EEG in both sides of brain-hemispheres were often recognized.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Niigata University)

白鼠の全血酸素解離曲線とこれに及ぼす

高度低圧の影響について 612. 127. 2: 612. 275

The Whole Blood Oxygen Dissociation Curves of
White Rats and Effects of Severe Hypoxia.

榎 泰 義 (ENOKI-Yasunori)*

I. ま え お き

血液の酸素 (O_2) 運搬機能を定量的に示すものとして、古くから研究され、利用されて来たのがヘモグロビン (Hb) ないし血液の O_2 解離曲線又は O_2 平衡曲線である¹⁾ が、近年、これら *in vitro* で得られた O_2 解離曲線 (O_2 -曲線) が、*in vivo* における血液の O_2 運搬能を忠実に表現していることも明らかにされた²⁾³⁾。

当然のことながら、 O_2 -曲線はその性質から、 O_2 不足条件下における O_2 運搬能と関連して古くから注目されて来た。従って、これに関する研究も多数にのぼっているが、その多くは中等度且、長期間にわたる O_2 不足にさらされた場合にみられる生体機能の変化 (馴化) の1つとしてこれを追求して居り、急性・高度の O_2 不足の場合について系統的に研究しているものはない。

当教室においては年来、急性・高度の O_2 不足条件下における生体機能を主としてダイコクネズミ (ネズミ) を用いて種々の方面から研究して来たが、此処に発表する業績もその一環をなすものである。

Hb は、その種々な物理化学的並びに生化学的性質とともに、その曲線についても著明な種属特異性を示すものであるが⁴⁾⁵⁾、ネズミの O_2 -曲線については未だ報告されていない。従って、先ず正常条件下のネズミより得た全血についての O_2 -曲線をつくり、次いで高度低圧にさらされた動物から得た全血のそれを定めて、両者を比較した。その結果、高度の酸素不足は O_2 -曲

線の位置を右偏させるのみならず、その形を変化 (n 値の低下) させるが、前者は代謝性アシドーシスによるものであり、後者は血清中の或る因子によることが明らかになったので報告する。

II. 実験方法

実験動物; 体重 150~250g のネズミ (地方雑種) を用いた。実験前絶食させたものと、そうでないものとで得られた結果に差異は認められなかった。

低圧の負荷; デシケーターに真空ポンプを接続した低圧室にネズミを入れ、毎分 6,000m 相当高度のレートで減圧し、即ち、1分23~25秒を要して 240 mmHg に到達し30分滞留させ (適応)、次に37~35秒を要して 145 mmHg に到達、ここに任意の時間だけ動物を滞留させた。

採血法; 全て断頭 (O_2 不足負荷例では、デシケーターより取り出した後、できるだけ早く) により流出する血液を大型遠沈管にとり、ガラス綿を用いて速やかに脱繊維素を行った。此の場合、多少の溶血は避けられないが、その程度は多い場合でも1%をこえなかった。

血液-ガス平衡; 以上の様にして得た新鮮血液 0.5ml 宛を、夫々種々の分圧の CO_2 - O_2 - N_2 混合ガスを容れた容量約 90ml 前後のトノメーター (容量は予め正確に測定しておいた) に入れ、恒温槽内で15分間、トノメーターの長軸を軸として回転 (約 70 r.p.m) させることにより血液-ガス間に平衡を成立させた。次に、トノメーターを回転装置から外し、恒温槽内に暫く立てて血液をトノメーター底部に流下させた後、恒温槽からとり出し、水銀と生理的食塩水で死

* 奈良医科大学生理学教室
〔昭和34年5月6日受付〕

腔を充した1ml ツベルクリン注射器に、当該血液を空気と触れることなく採取し、少量の水銀を吸いこんで封とし、これに更に1/4皮下針を小ゴム栓につきさしたものをつけて、血液ガス測定にかかるまで氷水中に保存した。この際、Lambertsen その他³⁾の意見にしたがい、弗化物その他の代謝抑制物質は全く加えなかつた。

なお、トノメーターを任意の混合ガスで充すには、先ず最初、Barcroftの方法¹⁾によって任意の空気-N₂混合ガスを充し、次いでガスビュレットを用いて計算量のCO₂を水銀によりこれに押し入れた。

血液O₂測定法; Roughton-Scholander 微量血液ガス測定法⁶⁾によった。1回の測定に要する血液量は約0.04mlで、測定の精度は±0.15 vol%であった。

トノメーター内ガス分析法; Haldane ガス分析装置を用い、ガス組成の分析と共に、トノメーター内の陽圧(または陰圧)の測定も行なった。

pH 測定; 一部のガス平衡血についてガラス電極を用いてそのpHを測定した。ガラス電極として斎藤の管型電極⁷⁾、比較電極として飽和甘汞電極を用い、これらを堀場製pH計 Model Pに接続し、2点補正によって室温下に測定した後、同僚田仲がネズミの血液について得た温度係数⁸⁾によって任意温度の値に換算した。

血中乳酸測定法; Barker-Summersonの方法⁹⁾によった。

アルカリ変性法; Jonxisの方法¹⁰⁾を若干改変して用いた。

計算:

血液% O₂ 飽和度; 下式によった。

$$\%O_2\text{飽和度} = \frac{(O_2\text{含量}) - (\text{物理的溶存}O_2)_1}{(O_2\text{結合能}) - (\text{物理的溶存}O_2)_2} \times 100$$

但し、O₂ 含量; ある分圧のO₂とある温度で平衡させた場合の血液O₂含量 (vol. %).

(物理的溶存O₂)₁; 上記条件で、血中に物理的に溶存するO₂量 (vol. %).

O₂ 結合能; 空気(室温)と充分平衡させた場合の血液O₂含量 (vol. %).

(物理的溶存O₂)₂; 上記の条件(大気圧, 室温)下に、当該血中に物理的に溶存するO₂量 (vol. %).

なお、物理的溶存O₂は、Sendroy等がウマの血液について得た値¹¹⁾から計算によって求めた。

トノメーター内ガス分圧; 下式によって計算した。

$$pO_2(pCO_2) = \frac{\%O_2(\%CO_2)}{100} \cdot$$

$$(B-W+pp \text{ or } -np) \cdot \frac{te+273}{tr+273} \cdot$$

$$\frac{V+S-b+s}{V-b}$$

但し、pO₂(pCO₂); トノメーター内O₂(又はCO₂)分圧 (mmHg).

%O₂(%CO₂); Haldane 装置によって得たトノメーター内O₂(又はCO₂)パーセント。

B, W; 夫々ガス分析時の大気圧並びにその時の室温での飽和水蒸気圧 (mmHg).

te, tr; 血液-ガス平衡に用いた恒温槽の温度並びにガス分析時の室温

V; トノメーター容量 (ml).

S; 分析のため、Haldane 装置のガスビュレットにとり入れたトノメーター内混合ガスの量 (ml).

b; ガス平衡のため、最初、トノメーターに入れた血液の量 (ml).

s; ガス平衡終了後、トノメーターよりとり出した血液の量 (ml).

np, pp; トノメーター内混合ガス S ml を、Haldane装置のガスビュレットにとり入れた時、ガスビュレットの水銀面と、水銀溜めのそれとの差から算出したトノメーター内の陰圧又は陽圧 (mmHg).

Ⅲ. 実験結果

1. 正常ネズミの全血酸素解離曲線

a. 予備実験

先ず最初に、上記の方法を用いて得られた全血O₂-曲線の確からしさを検討した。この目的

のために、人血を用いて $p\text{CO}_2$: 40 mmHg, t_e : 37.5°C の条件下に上記の方法により O_2 -曲線をつくり、これを人血標準 O_2 -曲線¹²⁾と比較したところ、良好な一致を認めることが出来た¹³⁾。

b. 正常ネズミの $t_e = 37.5^\circ\text{C}$ における O_2 -曲線
 $p\text{CO}_2$ として 4, 20, 40 及び 80 mmHg の場合について各 $p\text{O}_2$ に対する % O_2 飽和度をプロットして得られた O_2 -曲線は Fig. 1 にみられるように、典型的な S 字状を示した。この場合、用いたネズミは夫々 9, 13, 27, 4 例であり、同一例の血液について 1~5 点の測定を行った。なお、 $p\text{CO}_2$ が所定の値から ± 2 mmHg 以上ずれているものは本成績から除外し (但し、 $p\text{CO}_2$: 4 mmHg の場合を除く)、また Bohr 効果に対する補正は行なわなかった。

血液 (Hb) の O_2 -曲線には、その意義に関して重要な 2 つの属性、即ち、曲線の形と位置がある。此の 2 つの性質を定量的に表わすことができる Hill¹⁴⁾ の式を用いてデータ-を解析した。

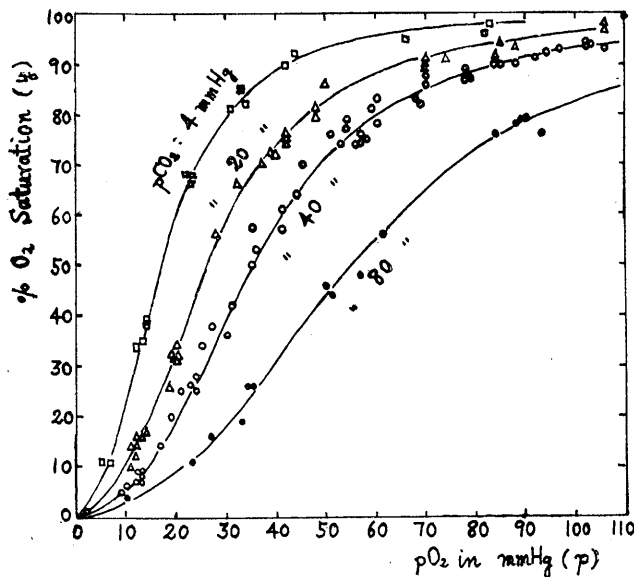


Fig. 1.

y vs. p plot of the whole blood O_2 dissociation curves in normal rats under the various carbon dioxide pressures ($p\text{CO}_2$) and equilibrium temperature of 37.5°C.

$$\frac{y}{100} = \frac{Kp^n}{1 + Kp^n} \text{ (Hill's equation)} \quad (1)$$

但し、y; % O_2 飽和度。

p; O_2 分圧 (mmHg)。

K; 曲線の位置 (Hb の O_2 に対する親和性) を示す常数。

n; 曲線の形 (S 字状の度合) を示す常数。

上式において $y=50$, 即ち全 Hb の 50% が O_2 で飽和するときの p を特に p_{50} で表わせば、

$$K = \frac{1}{p_{50}^n} \quad (2)$$

となるから、K を p_{50} で簡便に表わすことができる。また、(1) を変形して、

$$\begin{aligned} \frac{y}{100-y} &= Kp^n, \log \frac{y}{100-y} \\ &= n \log p + \log K \end{aligned} \quad (3)$$

が得られるから、 $\log \frac{y}{100-y}$ を $\log p$ に対して

プロットした場合、得られる直線の勾配が n を表わすことになる。

Fig. 2 は得た結果を (3) により処理して得られたものであるが、 $p\text{CO}_2$ が変化するに従って位置が変化し、且つ互いに平行する (n 値が等しい) 4 直線が得られた。

以上、37.5°C において得られた結果を Table 1 に一括したが、 O_2 -曲線は $p\text{CO}_2$ の増加 (血液 pH の低下) に伴ってその位置 (p_{50} 値) のみ右偏し、即ち酸の存在は O_2 に対する Hb の親和性を減ずること (Bohr 効果) を示し、他の動物について得られた多くの先人の業績と一致する (Fig. 8)。

c. 正常ネズミの $t_e = 29.5^\circ\text{C}$ における O_2 -曲線

$p\text{CO}_2$ として 20 及び 40 mmHg 下に夫々 2 及び 5 頭のネズミについて得た O_2 -曲線を Fig. 3 に示した。

なお、この場合の結果には温度低下による直接影響のほかに、温度低下に伴う血液 pH の変化の効果も含

まれているので、血液 pH の測定値から、Fig. 8 に示される関係を用いて補正を行った。更に (3) によって n を計算し、以上得られた結果を前同様 Table 1 にまとめた。即ち、29.5°C での O_2 -曲線は同一 pCO_2 (pH), 37.5°C でのそれに比べて、位置については左偏 (O_2 に対する親和性の増加) を示したが、その形 (n 値) は不変であって、これまた先人が他の動物血について得た成績と一致した。

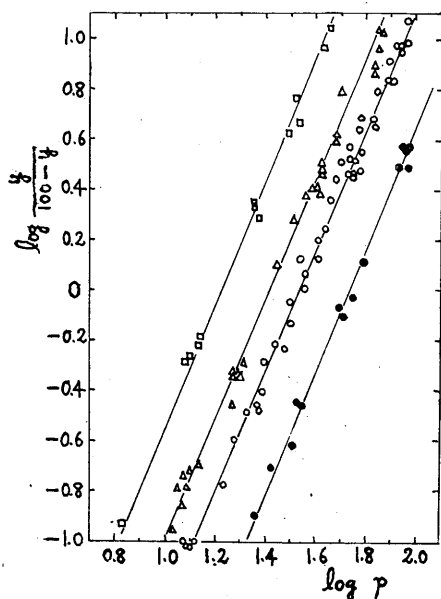


Fig. 2.

Linear relationships between $\log \frac{y}{100-y}$ and $\log p$ of the whole blood O_2 dissociation curves in normal rats, the slope of the each line (n in Hill's equation) being 2.5.
Equilibrium temperature : 37.5°C

Table 1.

Summarized representation of the characteristics, p_{50} and n , of whole blood oxygen dissociation curves in normal rat under the various pCO_2 and equilibrium temperatures.

pCO_2 mmHg	p_{50} (mmHg)		n	
	$te = 37.5^\circ C$	$te = 29.5^\circ C$	$te = 37.5^\circ C$	$te = 29.5^\circ C$
4	17		2.491	
20	26	18	2.468	2.537
40	35	25	2.472	2.516
80	55		2.509	

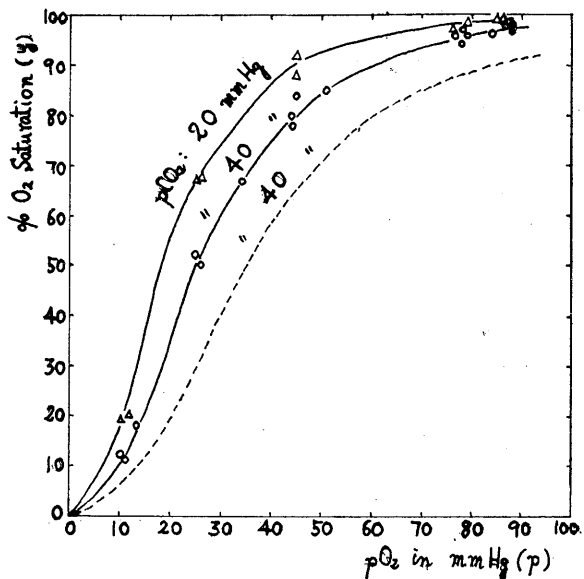


Fig. 3.

y vs. p plot of the whole blood O_2 dissociation curves in normal rats under the equilibrium temperature of 29.5°C.

Broken line represents the normal dissociation curve under the equilibrium temperature of 37.5°C.

次に、上に得た結果から Van't Hoff 式の積分形と (2) とを用いてネズミ全血の oxygenation の場合 ΔH° を求めたところ、-7,800 cal を得た。

$$\Delta H^\circ = 2.303R \cdot \frac{T_1 T_2}{T_1 - T_2} \cdot \log \frac{(p_{50})_2}{(p_{50})_1}$$

$$= -7,800 \text{ cal}$$

但し、 R ; 気体常数.

$$T_1 ; 273 + 37.5 = 310.5$$

$$T_2 ; 273 + 29.5 = 302.5$$

$(p_{50})_1$; pCO_2 : 40 mmHg, 37.5°C における

O_2 -曲線の p_{50} 値 = 35 mmHg.

$(p_{50})_2$; pCO_2 : 40 mmHg, 29.5°C における

O_2 -曲線の p_{50} 値 = 25 mmHg.

2. 高度低圧に滞留させた (適応) ネズミの全血酸素解離曲線

鎌倉¹⁵⁾によれば、ネズミの高度低圧 (145 mm Hg) にたいする耐性は、予め動物を中間低圧 (300~220 mmHg) に 20~40 分滞留させ、即

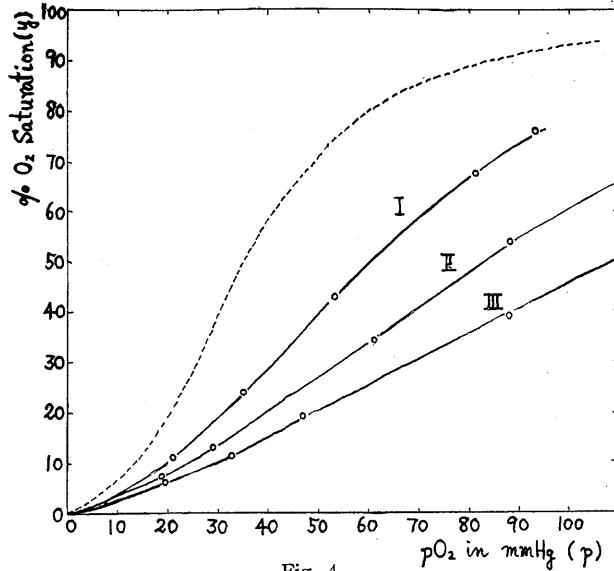


Fig. 4.

y vs. p plot of the whole blood O_2 dissociation curves in three hypoxic rats, indicating the right shift and change in the shape of the curves in comparison with the normal curve (broken). Equilibrium conditions: pCO_2 ; 40 mmHg, temperature; $37.5^\circ C$. Hypoxic condition: I rat was allowed 30 min, and II and III rat 60 min. respectively at the barometric pressure of 145 mmHg after the preliminary exposure to 240 mmHg for 30 min.

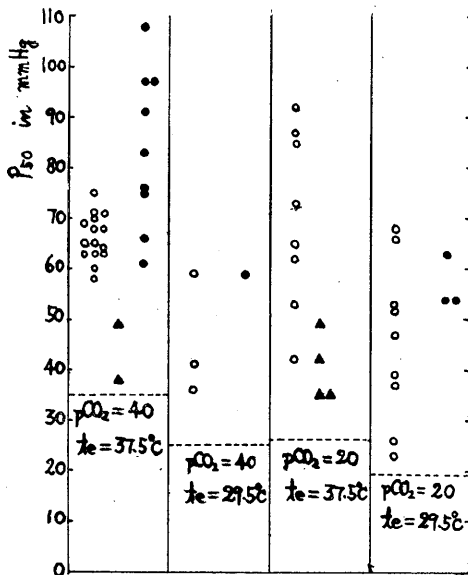


Fig. 5.

Diagrammatic representation of the p_{50} values in all the whole blood O_2 dissociation curves in hypoxic rats in comparison with those in normal rats (broken line). ○: the rats allowed 30 min. at 145 mmHg after the same preliminary exposure as in Fig. 4, ●: those allowed 60 min. or more at the pressure after the same preliminary exposure, ▲: those allowed about 2 min. at the pressure without the preliminary exposure. p_{50} : the pO_2 of dissociation curve at which half of the blood pigment is saturated with O_2 .

ち、適応させることにより著明な増加を示す。それで、今回は 240 mm Hg に予め30分滞留させた後、145 mmHg に30～60分おいた場合、その O_2 -曲線が正常時のそれに比べてどのような変化を示すかを検討した。

a. 低圧適応ネズミの $te = 37.5^\circ C$ における O_2 -曲線

Fig. 4 は以上のような低圧適応ネズミから血液について pCO_2 : 40 mm Hg のもとに得た O_2 -曲線の中、3例を正常 O_2 -曲線と対比させて示したものである(曲線 I 及び III は、夫々曲線右偏の最小及び最大のものに相当する)。これから明らかにわかることは、先ず第一に著明な曲線の位置の右偏(O_2 に対する親和性の低下)である。この点は、 pCO_2 や te を変えて得られた全 O_2 -曲線の p_{50} 値を一括した Fig. 5 から明らかに認めることができる。同図からは

また、右偏の程度が大きな個体差を示すこと、及び低圧負荷時間が長くなるにつれて右偏の度合が大きくなること等が同時に指摘される。

次に、明らかな第二の変化は曲線の形に関するものである。これを定量的に示すには、先に述べたように n を求めてもよいが、この場合は各曲線の位置即ち右偏の度合は相当大きな相違を示すから、この位置の変化を消去して形の変化のみを比較するために次の方法をとった。即ち、(1) 及び (2) から下式を導き、

$$\log \frac{y}{100-y} = n \log \frac{p}{p_{50}} \quad (4)$$

$$\log \frac{y}{100-y} \text{ を } \log \frac{p}{p_{50}} \text{ に対してプロット}$$

したとき得られる直線の勾配が n に外ならない。この関係を用いて得られた結果は Fig. 6-b に示される通り、低圧適応ネズミの O_2 -曲線は正常動物のそれ (Fig. 6-a) に比べて、形にも変化を来していることがわかる。これを n 値で示せば、正常動物の O_2 -曲線では pCO_2 (血液 pH)

及び t_e の如何に関係なく 2.5 であったが、低圧適応動物のそれでは $p\text{CO}_2$: 20 及び 40 mmHg 下に得られた曲線からの全 n 値の平均は 1.9 に低下し、正常曲線に比べて S 字状の度合を減じていることを示した。更に, Fig. 4 から、右偏の程度の大きいものほど形の変化も大きいのではないかとの印象をうけるので、 $p\text{CO}_2$: 40 mmHg で得られた全曲線を右偏の程度によって 6 段階に分け、それら各群について n 値を算出したところ、明らかに両変化は平行的であることを示した (Table 2)。

b. 低圧適応ネズミの $t_e = 29.5^\circ\text{C}$ における O_2 -曲線

本実験の場合と同様な減圧方法でネズミを 145 mmHg に 30 分滞留させたときの結腸温は約 30°C に低下¹⁶⁾するから、上述の曲線 (37.5°C) の変化がこのような温度下にもみられるかどうかを検討した。得た結果は Fig. 5 及び Fig. 7 に示されるように、 $t_e = 29.5^\circ\text{C}$ においても上記

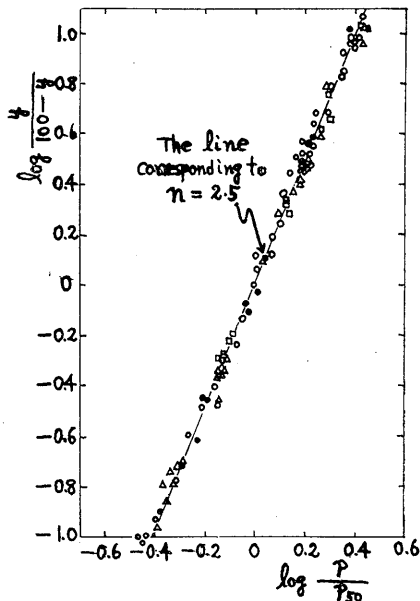


Fig. 6-a.

$\log \frac{y}{100-y}$ vs. $\log \frac{P}{P_{50}}$ plot of the whole blood

O_2 dissociation curves in normal rats ($n=2.5$).

Equilibrium temperature: 27.5°C .

The symbols are same as in Fig. 1.

2 変化を明らかに認めることができた。

3. 高度低圧を単純に負荷したネズミの全血酸素解離曲線

予じめ 240 mmHg に滞留させることなく、即ち、2 分 (減圧レート: 6,000m/分) で平圧から 145 mmHg に到達させ、呼吸停止の起る直前に平圧に戻してネズミを低圧室からとり出し、断頭採血してその O_2 -曲線を作った。

実験 6 例のうち、145 mmHg 到達から呼吸停止直前までの時間は最短 30 秒から最長 6 分 30 秒までの大きな個体差をしめした。 O_2 -曲線は $p\text{CO}_2$: 20 及び 40 mmHg 並びに t_e : 37.5°C の

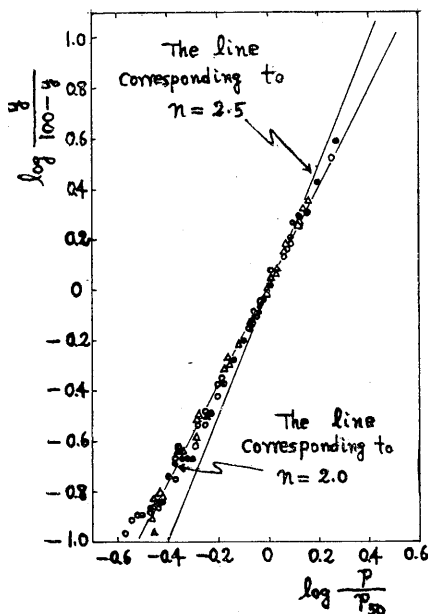


Fig. 6-b.

$\log \frac{y}{100-y}$ vs. $\log \frac{P}{P_{50}}$ plot of the whole blood

O_2 dissociation curves in hypoxic rats under the equilibrium temperature of 37.5°C , the slopes of the designated lines corresponding to $n=2.0$ and 2.5 respectively.

○: equilibrium $p\text{CO}_2$: 20 mmHg, hypoxic condition; allowance of 30 min. at 145 mmHg after the same preliminary exposure as in Fig. 4, △: equilibrium $p\text{CO}_2$: 40 mmHg, hypoxic condition; the same as above. ●: equilibrium $p\text{CO}_2$: 40 mmHg, hypoxic condition; allowance of 60 min. or more at 145 mmHg after the same preliminary exposure.

The calculated overall n value was 1.921,

もとに測定して得たが、Fig. 5 に示されるように、適応動物の場合に比べて軽度ではあるが明らかに曲線の右偏を認める事ができた。また、その形にも軽度の変化が生じていることが n 値

Table 2.

Summarized representation of the n values of whole blood O_2 dissociation curves in hypoxic rats in relation to the p_{50} values, showing the inverse relationship between n and p_{50} .

No. of experiments	The range of p_{50} value mmHg	n value in hypoxic curve	n value in normal curve
	35		2.472
1	40-50	2.115	
6	50-60	2.057	
14	60-70	2.008	
6	70-80	1.926	
3	80-90	1.884	
5	90-	1.711	

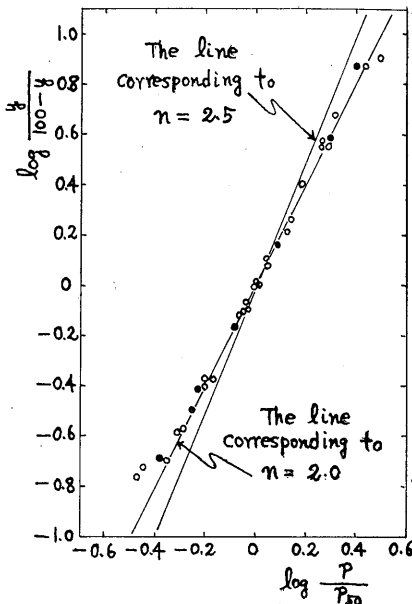


Fig. 7.

$\log \frac{y}{100-y}$ vs. $\log \frac{P}{P_{50}}$ plot of the whole blood O_2 dissociation curves in hypoxic rats under the equilibrium temperature of 29.5°C.
●: the equilibrium pCO_2 of 40 mmHg, ○: that of 20 mmHg.

The hypoxic condition: rats were allowed 30 min. at 145 mmHg after the preliminary exposure to 240 mmHg for 30 min.

The calculated overall n value was 1.941.

の計算からわかった ($n=2.375$). これらの成績から、ネズミの低圧適応と非適応との間には O_2 -曲線の変化について量的な差が認められるのみであり、従って曲線の位置及び形の変化は酸素不足負荷による一般的なものであることが解った。

4. 低圧負荷による O_2 -曲線の変化の原因

以上、 O_2 不足状態におかれたネズミの全血曲線はその位置の変化 (右偏) と共に、形の変化 (S字状の度合の減少) をも示すことがわかったが、次にこれら両変化の原因について検索した。

a. 低圧による O_2 -曲線の右偏について

右偏の原因としては、常識的に Bohr 効果、即ち、血液の酸性化が考えられる。この点を明らかにする目的で、既述の減圧方法により 145 mmHg に60分又はそれ以上おいた数例につい

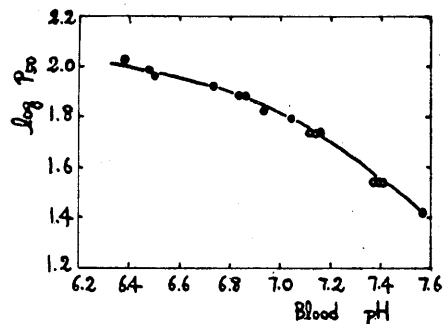


Fig. 8.

The relationship between the $\log p_{50}$ and the blood pH.

●: of hypoxic rats, ○: of normal rats.
Equilibrium temperature: 37.5°C.

Table 3.

Blood lactic acid concentration (mg-%) in normal and hypoxic rats.

normal rats	hypoxic rats
39.0	66.0
24.8	120.0
15.8	111.5
33.0	84.6
28.5	
28.5	
29.0	
23.6	
mean: 27.8	

て、 O_2 -曲線作製に用いたガス平衡血 (pCO_2 : 40 mmHg) の pH を測定し、それを各々の p_{50} 値と比較した。その成績は Fig. 8 にみられるように、 p_{50} 値の増大 (曲線の右偏) している場合には常にその血液 pH 値の低下が認められ、且つ、曲線の右偏度と pH の低下度とは大雑把に平行することがわかった。

次に、曲線の右偏をひき起した血液酸性化の原因としては、当然、血中酸の増量が考えられるが、その主体をなすものが乳酸であろうとは容易に考えられる所である。 O_2 不足を負荷した数例について、その血中乳酸量を測定したところ、Table 3 に示されるように著明な増加が認められた。

b. 低圧による O_2 -曲線の形の変化 (n 値の低下) について

i) Hb のアルカリ変性との関係

Cordier¹⁷⁾ その他によれば、 O_2 欠乏状態におかれたイヌの赤血球内 Hb の吸収スペクトルは正常イヌのそれとはかなりの違いを示すという。このことは、 O_2 欠乏の直接又は間接の影響によって Hb 分子に何らかの変化が起っているのではないかとの印象を与える。他方、曲線の形は Hb の分子構造に何らかの意味で関係するものであらうとの説が近年専ら行なわれている⁴⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。

上に述べた観点から、 O_2 不足による n 値の低下が Hb の分子構造の変化に基づくものであるかどうかを、操作の簡便なアルカリ変性法によって検討した。その結果は Fig. 9 に示す通り、ネズミの場合、平圧下の成熟動物の血液中には、2 種類乃至それ以上のアルカリ変性する抵抗の違う Hb の存在が認められ、 O_2 不足におかれた動物のそれとの間には、質的 (存在する Hb の種類及びそれらのアルカリ変性速度) にも、量的 (各種 Hb の存在比) にも本質的な差異は認められなかった。即ち、仮りに Hb がアルカリ変性に関して 2 成分より成るものとし、且つ、両成分とも同変性は一次反応に従うものとすれば、そのアルカリ抵抗の強い成分は正常ネズミ、 O_2 不足負荷ネズミ共に全 Hb の約 5.7%

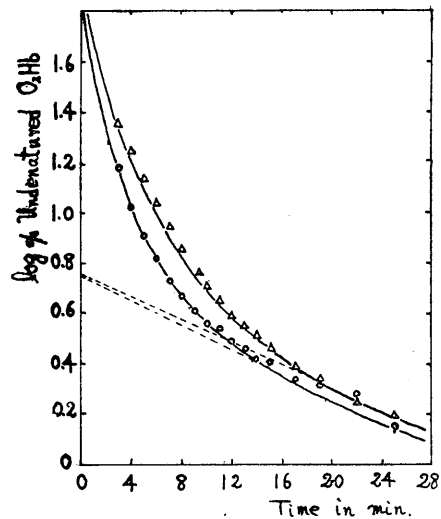


Fig. 9.

Rate of alkali-denaturation of 200 times diluted rat blood in 0.06 N NaOH at 25°C, determined by the reduction of extinction at the wave length of 576m μ .

○: 6 determinations on normal rats, △: 4 determinations on hypoxic rats.

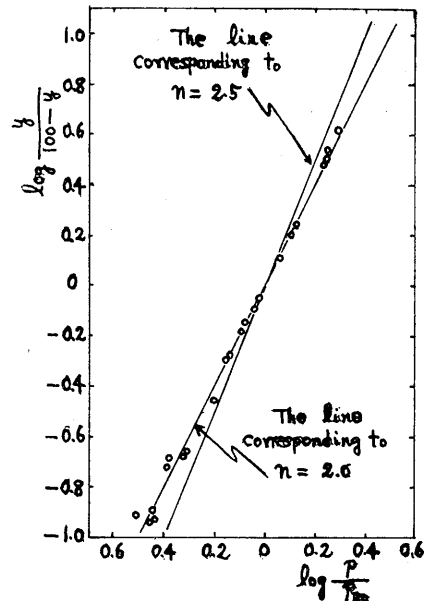


Fig. 10.

$\log \frac{y}{100-y}$ vs. $\log \frac{P}{P_{50}}$ plot of the whole blood O_2 dissociation curves (pCO_2 : 40 mmHg, equilibrium temperature: 37.5°C) in splenectomized hypoxic rats. The hypoxic condition was the same as in Fig. 7. The calculated overall n value was 2.005.

であり、且つ、アルカリ変性反応の速度常数は共に $1 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ 程度の値になり、両者間に差異はない。

従って、少くともアルカリ変性法による限りでは、 O_2 欠乏状態において Hb の分子構造に変化の起ることはない結論する事ができる。

ii) 脾臓との関係

また、Cordier¹⁷⁾ によればイヌの脾臓内貯蔵血の O_2 に対する態度は一般循環血のそれとは違うという。もしそうなら、 O_2 不足下に起る脾臓の収縮によりその貯蔵血が一般血流中に動員されて上記の変化をおこす可能性も考えられる。この点を明らかにするため、ネズミの脾臓を剔出し、3~4 週間経て動物が常態に戻ったのち、前同様にして 145 mmHg に 30 分おいてその O_2 曲線を作製した。その結果、 O_2 不足状態においてみられる形の変化 (n 値の低下) は脾臓とは無関係であることがわかった (Fig. 10)。更に、これと関連して、正常ネズミの O_2 結合能と O_2 不足負荷動物のそれとを比較したところ、夫々平均 20.5 vol % (44 例) 及び 20.2 vol % (31 例) となり、両者の間に差は認められなかった。

iii) 血清交換実験

高度に馴化したネズミの血清を正常ネズミに注射 (腹腔) すれば、Hb の O_2 に対する親和性を増すとの報告²⁰⁾もあるので、次のような実験を行なった。即ち、既述のように 240 mmHg に 30 分、145 mmHg に 30 分滞留させたネズミの血液を血球と血清とに分離する。a) かくして得た血球成分を冷生理的食塩水で 3 回洗滌し、更に正常ネズミの血液から分離した血清で 1 回洗ってからこれを再び正常血清に浮遊させ、この血球浮遊液について O_2 -曲線をつくった。他方、b) 正常ネズミの血液からの血球を上記の O_2 不足負荷ネズミの血清に浮遊させたもの (但し、 O_2 不足負荷ネズミの血清は多量にえられないので、生理的食塩水で 3 回洗った血球を直ちに血清に浮遊して用いた) についても O_2 -曲線をつくった。なお、a), b) 共に最終血球浮遊液の O_2 結合能が、始めの血球のそれにほぼ等

しくなるよう留意した。得られた結果から、n 値は a) については 2.299, b) については 2.063 と算出される。これらの成績は、上に述べて来た曲線の形の変化が、血清中の何らかの因子によって起されること、及びその作用が可逆的なものであることを示している。

IV. 考 察

1. 正常ネズミの O_2 -曲線

ネズミは実験動物としてよく用いられるものでありながら、その全血 O_2 -曲線について未だ報告されていない事は既に述べた通りである。しかし、種々の pCO_2 及び温度下に得た O_2 -曲線の諸成績は他動物のそれと質的には相違しないことを示した (Table 1)。即ち、n 値 (曲線の形) は pCO_2 (血液 pH) や温度に関係なくほぼ一定の値 (2.47~2.54) を示し、種々の哺乳動物血液について得られた n 値 (2.1~3.0) の範囲にある。また、曲線の位置に関する炭酸ガスの影響 (Bohr 効果) 及び温度効果も定性的には他動物のそれと同等変りはないが、 $t_e: 37.5^\circ\text{C}$, $\text{pCO}_2: 40 \text{ mmHg}$ 下に得た O_2 -曲線の p_{50} 値 (mmHg) を、ほぼ同条件下の他種哺乳動物血のそれ⁵⁾ と比較すると次のようになる。ヒト (26), ヒツジ (37), ハツカネズミ (72), モルモット (23.8), アザラン (31), ヤーマ (22), ネズミ (35)。

なお、 $\text{pCO}_2: 40 \text{ mmHg}$ における O_2 -曲線の p_{50} 値に対する温度の影響 (Fig. 3) から計算した oxygenation 反応の $4H^\circ$ は -7.8 kcal で、これ又近年ヒツジの Hb 溶液について得られた値²¹⁾, -8.2 kcal とよく一致する。但しこの $4H^\circ$ には Hb 分子の Bohr 効果に関与する基からのプロトン解離の熱及び血液緩衝物質のイオン化熱が含まれている⁴⁾。

2. 高度 O_2 不足状態におかれたネズミの O_2 -曲線

本論に先だってデータの解析に用いた Hill 式について一言したい。近年、曲線が S 字形をとる原因について Hb 分子のもつ 4 コのヘム間に相互作用 (facilitating heme-heme interaction) が仮定され²²⁾⁴⁾, その作用強度をしめす尺度と

して Hill 式の常数 n が用いられるようになった。即ち、Hb 分子の各ヘムが O_2 との結合に於いて相互に全く独立しているか又は Hb 1 分子にヘムがただ 1 コ含まれる場合には $n=1$ (直角双曲線) となるが、Hb 分子に複数コのヘムが存在してこれらヘム間に相互作用が働く場合は $n>1$ (S 字状曲線) となる。Wyman⁴⁾ は、Hb を尿素によって半裂させた成績から、Hb 分子は各々 2 コのヘムを持つ互いに等しい半分子から構成され、同一半分子のヘム間には強い相互作用が異なる半分子のヘム間には弱い相互作用が働いているという。何れにしても、ヘム間相互作用即ち曲線の形が Hb の分子構造と密接に関連することは間違いない。

既に述べた通り、動物に 145 mmHg を負荷するときは曲線の位置と形の両者が明らかに変化した。このうち前者、即ち、曲線の右偏は組織 O_2 不足下の乳酸増加を主因とする血液 pH の低下に基づくものと考えられる (Table 3, Fig. 8)。しかし、乳酸のみで曲線右偏が説明されるかどうかは疑問である。その理由の第一は、2 分間で 145 mmHg に達し、約 2 分後又はそれ以内に復圧した場合も曲線は右偏したが、この条件下で乳酸の認むべき蓄積は考え難い。理由の第二は、曲線の右偏を起すものとして pH 以外の²³⁾ 因子、例えば血中塩類の変動²⁴⁾ も考えられ、一方、高度 O_2 不足は血中 K の増加²⁵⁾ を来たすとの報告もある。本研究でも、正常血液と O_2 不足状態においた (240 mmHg 30', 145 mmHg 30~60') 動物血液とで、その pH-log p_{50} 関係が違うように思われる (Fig. 8)。しかし、この関係が直線関係にないことも知ら⁴⁾ れて居るから、本実験の範囲からは決定的なことは言うことができない。

次に、曲線の形 (n 値) の変化であるが、正常血のそれが一定であるに対して、 O_2 不足負荷動物血のそれは明らかに低下し (2.12~1.71), 且つ低下度は曲線の右偏度と平行的である (Table 2)。後者の点から、 n 値低下と血液 pH 低下との間に関連があると一応は考えられるが n が pH によって全く影響されないことは既知の事実⁴⁾ で

あり、また p_{50} が共に 50~60 mmHg を示した正常下及び O_2 不足状態下曲線の n が明らかに違う (Table 1, 2) 本実験成績からも否定される。また、アルカリ変性法によって見た Hb 分子構造の変化 (Fig. 9) や O_2 不足時の血液 O_2 -親和力に関する脾臓の役割も O_2 不足による n 値低下に無関係であった (Fig. 10)。しかし、血清交換実験の結果からは、血清中の何らかの因子がヘム間相互作用減少の原因となる可能性が示されると共に、この因子の影響は可逆的なものであることをも示した。この因子の本態については今後の研究に俟たねばならないが、 n 値低下が O_2 不足の影響の進行と平行する成績 (Table 2) から考えれば、同進行と消長を共にする血清内物質であろうと推定される。他方、曲線の形に対して塩類^{18) 26) 27)} が関係すると一般に考えられているが、これと関連して、胎児血と母体血の O_2 に対する親和性の差が、Hb そのものの差異よりはむしろ或種の血中透析性成分によるものであろうことを示した実験²⁸⁾ は興味深い。また、 O_2 不足におかれた犬の赤血球内 Hb 吸収スペクトルの変化が赤血球内 (milieu intraglobulaire) に起る或る変化によるものであろうと述べていること¹⁷⁾ も何らかの関連があるかも知れない。

最後に、 O_2 不足負荷による O_2 -曲線の変化の意義について一言述べたい。曲線の右偏即ち血液の O_2 に対する親和性低下が末梢における O_2 放出過程に有利なことは明らかであるがこの反面、肺における O_2 摂取については明らかに不利である、特に、145 mmHg という極端な低圧下では吸入気の pO_2 は 30 mmHg に過ぎず、直接血液と接する肺胞気の pO_2 が更にこれより低くなる事を考えれば、この不利は大きな比重をもつ事になる。この点に関して、曲線の形の変化 (n 値の低下) はある程度迄これを補うのではないかと考えられる。即ち、 p_{50} 値が等しく、 n 値が違う 2 つの曲線を比較すると、 n 値の低いものは高いものに比べて pO_2 の低い所では y (Hb O_2 %) が大であり、このことは多くの O_2 を取り得ることを示している。

しかし、実際問題として n の 2.5 (正常下) と 2.0 (O_2 不足下) とではその差は大きなものではないから、 n 低下による O_2 摂取の有利さを以って酸素不足耐性、少くとも鎌倉等の低圧適応を説明することは困難と思われる。

V. 総 括

正常及び 145 mmHg 下に 30~60 分滞留させたダイコクネズミについて夫々全血酸素解離曲線 (O_2 -曲線) をつくり、両者を Hill の式によって比較解析して次の結果を得た。

1. 平衡温度 37.5°C, 平衡炭酸ガス分圧が 4, 20, 40 及び 80 mmHg において得られた正常 O_2 -曲線から、 n 値として夫々 2.491, 2.468, 2.472 及び 2.509 を、また p_{50} (半飽和時の酸素分圧) として夫々 17, 26, 35 及び 55 mmHg を得た。同様に、平衡温度 29.5°C, 平衡炭酸ガス分圧が 20 及び 40 mmHg において得られた曲線から、 n 値として夫々 2.537 及び 2.516 を、 p_{50} として夫々 18 及び 25 mmHg を得た。

2. 平衡炭酸ガス分圧を 40 mmHg, 平衡温度を 37.5°C と 29.5°C とした場合の正常 O_2 -曲線の p_{50} 値から、Van't Hoff 式によって計算した oxygenation 反応時の $4H^+$ は -7.8 kcal であった。

3. 急性高度 O_2 不足状態におかれた動物の O_2 -曲線は、位置の右偏即ち p_{50} 値の増大 (ヘモグロビンの酸素に対する親和性の低下) と形の変化即ち n 値の低下 (1.9) (ヘム間相互作用の低下) とを示し、且つ両変化の程度と O_2 不足負荷時間との間に平行的関係が認められた。

4. 前記曲線の右偏度は血液 pH の低下と平行的に推移し、またこの場合に血中乳酸量は著明に増加した。

5. 前記 n 値低下の原因に関連して、正常ネズミ血の血球と O_2 不足負荷ネズミ血の血清とから成る血液について得た O_2 -曲線の n 値は 2.063 であるに対して、逆に前者の血清と後者の血球とから成る血液について得たそれは 2.299 であった。なお、脾臓摘出及びヘモグロビンのアルカリ変性は n 値低下と無関係であった。

6. 1~5 の成績に基づき、 O_2 不足による O_2 -曲線の変化、特に n 値のそれと生理的意義について考察した。

文 献

- 1) Barcroft, J. (1914) The respiratory function of the blood. Cambridge University Press, London.
- 2) Riley, R. L. et al. (1946) The relationship of O_2 , CO_2 and hemoglobin in the blood of man: Oxyhemoglobin dissociation under various physiological conditions. J. Clin. Invest. **25**, 139
- 3) Lambertsen, C. J. et al. (1952) Relationship of oxygen tension to hemoglobin oxygen saturation in the arterial blood of normal men. J. appl. Physiol. **4**, 873
- 4) Wyman, J., Jr. (1948) Heme proteins. Adv. Prot. Chem. **4**, 407
- 5) Prosser, C. L. (ed.) (1950) Comparative animal physiology. Chapt. 9, Saunders, Philadelphia.
- 6) Roughton, F. J. W. et al. (1943) Micro gasometric estimation of the blood gases. I. Oxygen. J. Biol. Chem. **148**, 541
- 7) 斎藤幸一郎・他 (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
- 8) 田仲秀作; (未発表)
- 9) 斎藤正行 (1952) 光電比色計による臨床化学検査 南山堂 東京
- 10) Jonxis, J. H. P. et al. (1956) Determination of low percentages of fetal hemoglobin in blood of normal children. Am. J. Dis. Children, **92**, 588
- 11) Sendroy, J., Jr. et al. (1934) Studies of gas and electrolyte equilibria in blood. XIX. Oxygen solubility in blood. J. Biol. Chem. **105**, 597
- 12) Bock, A. V. et al. (1924) The oxygen and carbon dioxide dissociation curves of human blood. J. Biol. Chem. **59**, 353
- 13) 榎 泰義・他; (未発表)
- 14) Hill, A. V. (1910) The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. J. Physiol. **40**, 4
- 15) 鎌倉勝夫・他 (1949) 高度低圧への適応 日本生理誌 **11**, 学31
- 16) 森川 昭 (1953) Urethane-低圧効果と体温 第7回 日本生理学会近畿談話会に発表
- 17) Cordièr, D. et al. (1950) Etude spectrale du sang au cours de l'anoxie progressive. Spectres d'absorption de l'hémoglobine dans les hématies et en solution après hémolyse. Compt. rend. Soc. Biol. **144**, 844
- 18) St. George, R. C. C. et al. (1951) The combining power of hemoglobin for alkyl isocyanides, and the nature of the heme-heme interactions in hemoglobin. Science, **114**, 629

- 19) Riggs, A. F. (1956) Sulfhydryl groups and the structure of hemoglobin. *J. gen. Physiol.* **39**, 585
- 20) Barker, J. N. (1957) Role of hemoglobin affinity and concentration in determining hypoxia tolerance of mammals during infancy, hypoxia, hyperoxia and irradiation. *Am. J. Physiol.* **189**, 281
- 21) Paul, W. et al. (1951) The equilibrium between oxygen and sheep haemoglobin at very low percentage saturation. *J. Physiol.* **113**, 23
- 22) Pauling, L. (1935) The oxygen equilibrium of hemoglobin and its structural interpretation. *Proc. Nat. Acad. Sc.* **21**, 186
- 23) Litarceck, G. et al. (1931) Des facteurs qui peuvent influencer l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène. exprimée par la constante de dissociation $1/k$. Les facteurs intraglobulaires. *Compt. rend. Soc. biol.* **106**, 973
- 24) Battaglia, F. C. et al. (1958) The effects of acute hypoxia on the osmotic pressure of the plasma. *Quart. J. Exptl. Physiol.* **43**, 197
- 25) Pratt, A. J. et al. (1955) Role of the adrenal gland in the response of plasma potassium of the rat to moderate and severe hypoxia. *Endocrinol.* **57**, 450
- 26) Barcroft, J. et al. (1909) The dissociation curve of the blood. *J. Physiol.* **39**, 118
- 27) Barcroft, J. et al. (1909) The dissociation curve of haemoglobin. *ibid.* **39**, 143
- 28) Allen, D. W. et al. (1953) The oxygen equilibrium of fetal and adult human hemoglobin. *J. Biol. Chem.* **203**, 81

Summary

The whole blood oxygen dissociation curves were determined in normal and the hypoxic rats which were allowed 30 or 60 minutes at 145 mmHg by an adaptive method and the results were analyzed by means of Hill's equation.

1. The n values of normal curves were estimated as the nearly constant value of 2.47 to 2.51 under the equilibrium carbon dioxide pressure of 4, 20, 40 and 80 mmHg and the equilibrium temperature of 37.5°C, while the p_{50} values at which half of the blood pigment was saturated with oxygen were 17, 26, 35 and 55 mmHg respectively. Under the equilibrium temperature of 29.5°C and carbon dioxide pressure of 20 and 40 mmHg, the n values of normal curves were 2.54 and 2.52, and the corresponding p_{50} values were 18 and 25 mmHg respectively.

2. On the basis of the temperature effect on the p_{50} value of normal curve, the value of $4H^{\circ}$ for the oxygenation was calculated as -7.8 kcal per mole of oxygen.

3. In the curves of hypoxic rats the p_{50} values increased and the n values decreased (1.9 in average), indicating the decrease in oxygen affinity and in heme-heme interaction of hemoglobin respectively. These changes appeared to run parallel with the time of exposure to hypoxia.

4. A close relationship was found between the increase in p_{50} and the decrease in blood pH of the hypoxic rats, in which blood lactate was markedly increased.

5. The n value of normal rat blood was reduced to 2.06 by replacing the serum with that of hypoxic rat, while the increased value of 2.30 was obtained on the hypoxic one whose serum was replaced by normal rat serum. The spleen and alkaline denaturation behaviors of hemoglobin in hypoxic rats had no direct bearing on the decrease of n value.

6. From these results, the changes in whole blood oxygen dissociation curve in hypoxia, especially the decreased n value were discussed.

(Department of Physiology, Nara Medical College)

地方小学会報

第18回日本生理学会近畿談話会 (つづき)

時 昭和33年10月12日 (日)

所と当番 和歌山市民会館 長井音次

18. 森島正彦・宇佐美駿一 (京都府立医大第1生理)

Aldosterone の分泌と食塩摂取量との関係

1. Aldosterone の定量法

Wettstein 等の方法を改良して24時間尿より, Aldosterone をクロロホルムにて抽出しこれを Column Chromatography と3枚の Paper-Chromatography (Propylen-Glycol-Toluene System, Bush C System, E₂B System) を組合せて Aldosterone を単離してこれを Nowaczynski の方法で定量した。

2. 食塩摂取量と Aldosterone の排泄量について

2人の被験者について食餌中の食塩量を色々に変えてその場合の尿への塩分1日排泄量と Aldosterone の排泄量との関係を調べた。食塩摂取量としては1日30g与えたものを高塩食とし1日0.95g としたものを低塩食とした。普通食では個人により又日により多少異っているが NaCl として12.5~15.2g/日であった。実験の結果低塩食期には NaCl の排泄量が少く、高塩食期には増加している。K排泄量には一定の傾向はない。又血中の Na, K, Cl には殆んど変化はみられなかった。Aldosterone は低塩食期には著明に増加しているが、高塩食期には普通食期と殆んど同じである。其他の 17-Ks, 17-OHCS の尿中排泄量をも調べたが各食期相互間に殆んど変化はなかった。此の低塩食期の Aldosterone の増加はこの間に Na の逆吸収の促進せられる事を意味し、これにより血中の Na 濃度が塩分摂取不足によって影響せられずに一定値を保っているのである。

Aldosterone の分泌と Na 排泄量, K/Na 比との間の相関をとってみると Na 排泄量との間には負相関, K/Na 比との間には正相関が得られた。しかし此の相関図に於いて回帰線を個人別に描いてみると両者間に有意の差が認められる。これは日常のNa摂取量に基く Aldosterone 分泌の変化の敏感度が違う為ではないかと考えられるが将来の

研究を要する。

19. 松本 敏・大槻秩司 (京都府立医大第1生理)

無機塩組成より見た固有唾液と刺激唾液

固有唾液と刺激唾液は分泌機構も性状も異ると云われているが、従来の研究者達は唾液の組成を論ずるに当って流出速度との関連を見ていない。併し我が教室の研究に依れば人及び犬の刺激唾液に就いてはその組成は流出速度の函数である事が明かである。従って従来の固有唾液と刺激唾液の差は流出速度の差の影響であるかも知れない。そこで果して本質的に両者に差があるかどうかを検討せんとして本研究を企てた。

実験は人の混合唾液に就いてであって清水で口をすすぎ正確に5乃至10分間口中に貯え、これを目盛付試験管の流動パラフィン下に採るのである。先ず午前7時から午後9時迄の日中変動に就いて調べると pH, CO₂, Na⁺ は流出速度が高くなるに従って濃度は高くなり、K⁺, Cl⁻ は流出速度が低くなるに従って高くなる傾向を認めた。この事は pH, CO₂, Na⁺, K⁺ に於いては刺激唾液に就き教室の高岡等が報告したのと同じ結果であるが Cl⁻ に就いては異っている。

併し従来の刺激唾液は何れも流出速度の可成り高い範囲に就いて調べたものであるから、今回はその低い範囲のものについて調べて見た。その結果ピロカルピン唾液についても流出速度が極度に低下すれば Cl 濃度は再び上昇して来る事が明かとなった。そして固有唾液と刺激唾液の組成をその流出速度を横軸として同一の図の上に画いて見ると各測定点は固有唾液、刺激唾液を通じ同じ線上に乗る事を確めた。

此等の成績から固有唾液と刺激唾液は唾液そのものには本質的な差がない事が明かであり、もし差がありとすれば単に分泌の支配中枢とか支配因子と云った点である。要するに従来固有唾液と刺激唾液に根本的に差のある如く論じたのは流出速度との関連を考慮に入れなかった為であろう。

20. 遠藤治郎・片山吉穂・小門峯子 (京都府立医大第2生理)

FRC (カタラーゼ反応固定赤血球) に関する研究, 殊に粘度, ヘマトクリット値及び沈降速度などと媒体濃度との関係について

いわゆる血液等張濃度, 例えば温血動物の場合 0.9% あるいは 0.16M 食塩水中で最も溶血し難いように思われるが, 実際にはこれよりも数倍濃厚な塩類溶液中で最も溶血し難い。この濃度を中村・黒田は最小溶血濃度とよび, これに関係する現象が黒田ならびにその門下によって広く研究されている。それらのうち赤血球浮游液の粘度は最小溶血濃度附近で極値をとり, これはその媒体中における赤血球の形態に関係することが知られている。したがってもし赤血球の形態が媒体濃度の変化によって変らないならば, いわゆる最小溶血濃度における粘度の極値は現われなければならないはずである。舟木は, 赤血球浮游液のカタラーゼ反応によって赤血球がその媒体中における形態のまま固定され, これをカタラーゼ反応固定赤血球 (FRC) とよんでいる。完全に固定された FRC は, 媒体濃度をいろいろに変えてもその形態が変らない。そこで, ウシ, イヌおよびニワトリなどの赤血球ならびに FRC を種々の濃度の食塩水中に浮游させ, その粘度を測定するとともに, FRC 浮游液のヘマトクリット値, 沈降速度および FRC の直径を測定し, 形態を観察した。

なまの赤血球浮游液ではいわゆる最小溶血濃度における粘度の極値が見られたが, FRC 浮游液では媒体濃度の増すほど粘度は大きくなり, 赤血球浮游液における最小溶血濃度に関する黒田の説が肯定された。また FRC の直径とヘマトクリット値は平行的傾向で変化し, とともに媒体濃度の増すほど大きくなるが, はなはだしく高濃度になるとかえって小さくなる。なお, FRC の沈降速度は媒体濃度の増すほど小さくなり, 媒体濃度が 0.16M より稀薄な場合には粘度の変化とヘマトクリット値の変化とがほぼ平行する。

21. 片山吉穂・本郷節哉 (京都府立医大第2生理)

FRC (カタラーゼ反応固定赤血球) に関する研究, 殊に静注限界量と生体に及ぼす影響

FRC を動物に静注すると短時間に末梢流血中から FRC が消失し, 主として肝, 肺, 脾及び骨髄

などでとらえられ, ついで各臓器内の FRC 量は次第に減少し, 72~120 時間で生体内から消失する。また異種の FRC を静注すると, 一過性血圧下降がみられる。ところで, FRC を静注された動物には, 一見異常がみられないので, FRC 静注の極量と静注後の血液像及び組織像などをしらべた。実験には, FRC を Ringer 液に浮游し (約 $600 \times 10^4/\text{mm}^3$) イヌあるいはウサギに静注した。

1. 普通ウサギに FRC を 2.5ml/kg 注射しても死なないが, 更に大量注射すると死亡する。また瀉血してから直ちに, または 2 日以内に FRC の 1~5ml/kg を注射した場合, 死ぬ場合も死なない場合もあった。しかし, イヌから 100ml (約 10ml/kg) の瀉血後, 直ちに 100ml の FRC を注射しても死亡せず, 注射後 4 カ月にわたって観察したが, FRC の栓塞による障害とおぼしき所見は見られなかった。しかし体重 6.5kg のイヌから 130ml 瀉血し, 直ちに FRC を 130ml (20ml/kg) 注射したところ, 30~90 分後における末梢血の塗抹標本で, FRC が白血球に貪食されている像がみられ, このイヌは注射後 3 日で死亡した。

2. ウサギにイヌあるいはウサギの FRC の 2.5ml/kg を静注後, 10分~4 時間にわたり白血球数は著しく減少し, 殊に顆粒白血球の方が淋巴球, 単球よりも著しい。8 時間後にはおよそその値にもどる。また赤血球は軽度ではあるが一過性に増加している。ところが, 8 日間にわたってしらべると, 24~48 時間では白血球数は著しく増加し, 殊に顆粒白血球の方が淋巴球よりも著しい。

3. ウサギにウサギの FRC の 2.5ml/kg を注射し, 2, 4, 8, 24, 48 及び 72 時間後に殺して, 主なる臓器を組織学的にしらべてみると, 肝, 脾, 腎, 肺に, はじめ鬱血がみられ, 時間の経過とともに消失する。肝では肝細胞内に顆粒が多く, 間質に細胞浸潤がみられ, また Kupffer 星細胞内に異物がみられるが, FRC を貪食している所見はみられない。注射 72 時間後でも, 腎では一次尿細管上皮に瀰漫腫脹が, 心及び肺では小出血の痕跡がみられる。しかし, 脳には何ら変化がみとめられない。

22. 木下喜博 (大阪市立大第2生理)

赤血球核の純粹分離法と核内カロチノイドにつ

いて

有核赤血球の核の物理化学的性状や機能検討の目的で、鶏の末梢赤血球を用い、その核の純粋分離及び核内色素の抽出定性を試みた。

1. 核分離法

鶏血液を 3,000 r.p.m 15分間遠沈し、上澄及び buffy-coat を取除き、有核赤血球のみを含む沈渣を 0.9% 食塩水で 2~3 回洗い、後、細胞と等容積の食塩水を加えて、よく振盪し、これを作間製 Homoblendor の容器内に入れ、機械的に溶血せしめ、次いで、溶血材料を 3 倍容の食塩水で稀釈して低速遠沈を行い、上澄のヘモグロビンや一部の赤血球膜、細胞質を取除き、核及び破壊されないで残る赤血球や一部の赤血球膜、細胞質を含む沈渣を 0.9% 食塩水で洗い、再び低速遠沈を行い上澄を捨てる。以上の操作を 3~4 回行くと、ヘモグロビンは完全に除去される。最後の沈渣をを 3 倍容の 0.9% 食塩水に浮遊せしめ、この試料を等張、pH を 7.4 に補正したアラビヤゴム溶液を用いて重層遠心分離すれば、管底に核が沈み、比重 1.100 と 1.075 のアラビヤゴム溶液の界面に残存有核赤血球が、1.075 の溶液と上澄との界面に一部の赤血球膜と細胞質が浮上する。管底の分離核を位相差顕微鏡で鏡検すれば、楕円形で、表面は smooth な外観を呈し、機械的に破壊された核は見当らない。又殆んど赤血球膜や細胞質を含まないし、分離核相互間の凝集は見られない。その上可成り大量純粋に分離出来る所から、此の核を用いて、有核赤血球の核酸や血色素合成の問題で新しい手懸りを得られるのではないと思われる。

2. 分離核内色素の抽出と定性

分離核の食塩水浮遊液を遠沈、その沈渣に 3 倍容の 80% メタノール、5ml の石油エーテルを加えよく混合した後、1% 塩酸数滴加え、これを Potter の homogenizer ですりつぶし、遠沈すれば最上層の石油エーテル中に混濁した黄色々素が抽出され、これを数回水洗いすれば黄色透明となる。この抽出液を芒硝にて脱水し定性試験に用いた所、濃硝酸、トリクロール醋酸、蟻酸等による呈色反応、Beckman Spectrophotometer による分光吸収曲線の測定並びにクロマトグラフ吸着法により、核内色素はキサントフィルと考えられる結果を得た。

23. 久保秀雄 (阪大第 1 生理)

酵素的酸化還元機構に関する一知見

D-アミノ酸酸化酵素を結晶化として純化すると一定量の鉄が見出される。これは酵素に堅く結合している。基質アラニンからこの酵素によって水素の離れるに伴って $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ なる還元が起こる。

一方、この酵素の酸化還元電位を直接法によって測ると $dE_0'/d\text{pH}=0$ である。これは電子のみの移動を物語っている。他方、酸化還元指示色素とこの酵素系とを共役させることによって求められる平衡恒数から E_0' を算出すると $dE_0'/d\text{pH} = -0.03 \text{ Volt/pH}$ となる。これは H^+ に従属する。平衡恒数を求めるときの目安は $\text{FAD} \rightarrow \text{FADH}$ である。従って $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ と $\text{FAD} \rightleftharpoons \text{FADH}$ とのターンオーバーは 1 つは電子移動を他はプロトン移動を受持っている。基質の酸化は Fe と FAD の還元を、酸素はこれらの酸化に与り、ターンオーバーが営まれると推論できる。

24. 松田政博 (奈良医大生理)

ミトコンドリアのコハク酸酸化酵素系に対するエチールウレタン及び 2, 3 阻害剤の阻害形式について

コハク酸酸化酵素系 (SOS) に対するエチールウレタン (U) の反応速度論的阻害型式を解析し、2, 3 の他の阻害剤と比較検討した。

実験方法

白鼠の肝ミトコンドリアを酵素材料とし、酵素活性測定は分光学的方法によった。受容体には ferricyanide, 2,6-dichlorophenol-indophenol 及び cytochrome C を用い、阻害剤としては U の他に oxalacetate, malonate 及び p-chloromercuri benzoate を使用した。阻害型式は Friedenwald & Maengwyn-Davies の理論にしたがって解析した。

実験成績

1. ferricyanide, 2,6-dichlorophenol-indophenol, Cytochrome C を受容体とした場合の michaelis 定数 K_m 及びこれら受容体の SOS との平衡定数 K_a を測定した。

2. oxalacetate は基質に対しては拮抗、受容体に対しては非拮抗阻害を示した。

3. P-chloromercuri benzoate の阻害型式は基質受容体の両者に関し非拮抗的であった。

4. malonateはその濃度が基質濃度の2/100以下では促進を示したがそれ以上の濃度では基質に対し完全な拮抗阻害を示した。

5. ethylurethaneは受容体に対しては完全な拮抗阻害の型式を示したが、基質に対しては拮抗と非拮抗の中間の阻害型式を示し、 α の値は用いる受容体によって異った。

以上の成績について考察を行い、Uの上記阻害型式を論議した。

25. 大桶修義 (京大第2生理)

超音波刺激の酵母菌体並びに其の破砕片に及ぼす影響

生体生機の元基をなす単位体の主材を Liponucleoprotein なる高分子複合体と想定し、生機発現の究極的単位をばそれと水との特異的な相関々係の場に求めるところの生活基本小体論 (笹川) 検証の一端として、演者はさきに大腸菌を供試料とした超音波応用の菌体破壊並びに培養実験の追試を行い、Elementary unit of living System の存在を想定し得ると信ぜられるまでの成績を得ることに成功したが、更に生物学的普遍妥当律を深めるために此の度は試料を子囊菌植物に属する酵母の一種 (*Saccharomyces cerevisiae*) にとり、一連の超音波曝振実験を行ったので茲に其の主要を報告する。

超音波刺激による酵母の破壊破砕片の光学顕微鏡的検索では、黄色顆粒、油滴、十字形結晶像、正

八面体結晶像、混濁細胞、異形細胞、細胞膜断裂片等が認識された。電子顕微鏡の検索では 0.5~0.1 μ 数種の granula、細胞膜断裂片、網状構造断裂片、油滴等を認識した。超音波曝振酵母の培養成績に就いては、試料 5cc、超音波 560kc, 1500V, 0.2A 系列に於いて 20 時間培養では曝振 20 分以後群にコロニー数並びに濁度の著明な減少を見、40 時間培養では曝振 40 分以後に於いてコロニー数並びに濁度の著明な減少を見た。又短時間培養と長時間培養との成績を比較検討する意味で長端両培養例に認められたコロニー数の比率を求めることにより此の程度の曝振条件では、20 分曝振までは遅延増殖細胞の増加傾向が窺われ、30 分曝振以上では増殖能の停止乃至は死滅の経過をとる細胞の増加が考えられる様な数字を得た。超音波曝振酵母の濾過培養実験でも同じく長短両培養例の比較検討により得た数字から濾液中に現われるところの培養可能な生活体には遅延増殖を営むものの多いことを知った。培養成績に就いての鏡検では、曝振時間の増加に伴い pastorianische Form (胡瓜形)、顆粒構造不鮮明細胞、肥大細胞等の増加傾向が認められ、曝振 40 分以後群のコロニーは夥しい Sporen のみの集落であることを知った。

以上は超音波による酵母細胞の形態的分析並びに生物学的影響の一端を示すもので、生活基本小体論に立脚する生活体の分析的考察に資する超音波の特異性を示すものとも考えられよう。

(以下次号に掲載の予定)