

# 日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

第21巻 第11号

Vol. 21 No. 11

昭和34年11月1日発行

November 1959

## 原 著

- 宇 部 力：骨格筋の等流搏動刺激における閾分極の研究……………1159  
中 尾 弘 之：視床下部刺激によつて学習された猫の行動の条件づけについて……………1172  
小 倉 博 人：猫脳幹網様体の単位放電に関する研究 Ⅰ. 条件付け工作による単位放電の  
変化……………1178  
小 倉 博 人：猫脳幹網様体の単位放電に関する研究 Ⅱ. カテコール、覚醒アミン、ネン  
ブタール及びメジマイドの影響……………1192  
牛久保喜一・二村芙美江：Guanidine 痙攣について……………1203  
牛久保喜一・二村芙美江：Anticarnitin の髄液内投与による痙攣について……………1208  
二村芙美江：ビタミン B<sub>12</sub> 及びその類物質の髄液内投与と痙攣の機制につい……………1210  
中村耕之助・佐藤忠男・二村芙美江：髄液内投与による焦性ブドウ酸痙攣のマロン酸による  
阻止について……………1219  
佐 藤 忠 男： $\gamma$ -アミノ酪酸痙攣に対する ATP の作用に就いて……………1222  
舛 沢 郁 二：グリセロール抽出筋原線維における ATP 加水分解酵素、ミオキナーゼ及  
び AMP 脱アミノ酵素活性と力学効果との関連について……………1227  
吉 田 敬 一：自律神経緊張度と耐寒性の差異……………1235  
綱 島 清 三：尿中アドレナリン及びノルアドレナリンの化学的定量とその応用に関する  
研究（第1報）アドレナリンとノルアドレナリン定量の基礎条件の検討……………1242  
綱 島 清 三：尿中アドレナリン及びノルアドレナリンの化学的定量とその応用に関する  
研究（第2報）尿サンプルとしてのアドレナリン、ノルアドレナリンの定  
量法……………1249  
綱 島 清 三：尿中アドレナリン及びノルアドレナリンの化学的定量とその応用に関する  
研究（第3報）急性ならびに慢性の寒冷バク露における尿中アドレナリン  
とノルアドレナリンの動態……………1256

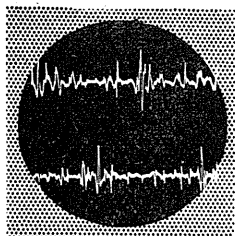
## 地方小学会報

- 第18回日本生理学会近畿談話会（つずき）……………1263  
第128回生理学東京談話会……………1264  
第10回生理学中国・四国地方談話会……………1269

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

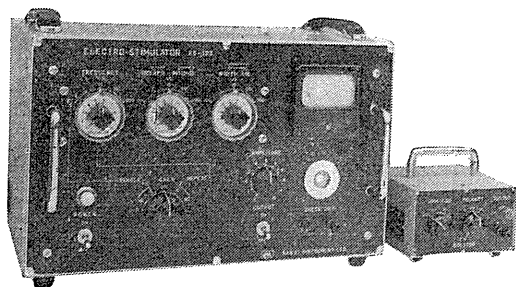
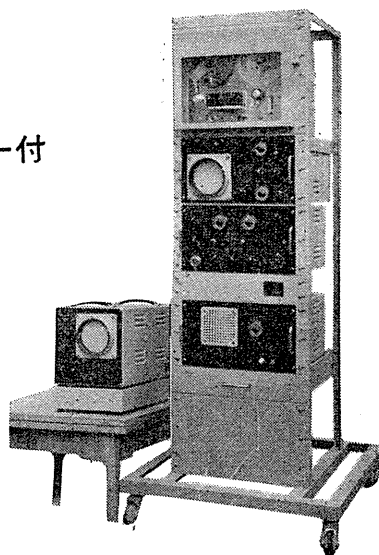
筋電図のほか脳波、心電図などの生体電気現象を2組同時に観測と写真撮影ができる——

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

- ・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・反覆はつまみ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) ② 4941・7825

骨格筋の等流搏動刺激における閾分極の研究 612.014.424:612.743

Studies on the Threshold Polarization by the Constant Current Pulse in the Skeletal Muscle.

宇 都 力 (Uro-Tsutomu)\*

1. 緒 論

電流が刺激となるのは電流によって興奮性組織の原形質境界膜にイオン又は塩類濃度の高まりが一定に達する<sup>1)2)3)4)5)6)</sup>, あるいはそこに脱分極(本稿では分極起電力として取扱う)が一定の値に達する<sup>7)8)9)</sup>時であるとするのは一般の通念であるが, 坂本<sup>10)11)12)</sup>の理論によれば, 単純な直角脈波の刺激では時間の長短により境界膜部の濃度増加が一定ではなく, 特殊な二段脈波を用いればそれが一定になるということであるから, この点を検討するため神経を材料として実験を行ない本誌前号<sup>24)</sup>(以後第1報とし本稿を第2報とする)に報告した. 本報告にはカエルの筋を用いて同じ様な実験を行なった結果を報告する.

II. 実験材料及び実験方法

1) 材料: トノサマガエル及びヒキガエルの縫工筋を d-Tubocurarine chloride (Amerizol-吉富製薬 K.K.) の  $3 \times 10^{-4}$ g/cc 液に十分に浸漬して神経による間接刺激を除去したもの. 季節は四季にわたり, 温度は  $18^{\circ}\text{C} \sim 23^{\circ}\text{C}$  の範囲で実験を行なった.

2) 実験装置は, 第1報神経の場合に用いた第2回路を用い, 筋を仕切函に装置し, これをホイートストンブリッジの比例橋の一つに入れ, ヘルムホルツ振子を利用してブリッジに等流搏動又は二段等流搏動を入れ刺激時間に応じた閾強度を定める. ホイートストンブリッジの抵抗を加減して筋のもつ分極容量成分を考慮しながら, ブリッジの検出部に入れたブラウン管増巾

装置を利用してその直流抵抗に対してブリッジを平衡せしめると, 刺激電流終了直後ブラウン管上に刺激電流の残した分極逆起電力の曲線が見られるようにした. ブラウン管オツシログラフ装置は抵抗容量結合増巾器を内蔵し時定数は 775msec. である.

液体電極の仕切を用い縫工筋の恥骨端より 2~3mm の所を緊密に仕切った. 第1報でなされなかった方法としては, 仕切函に入れず

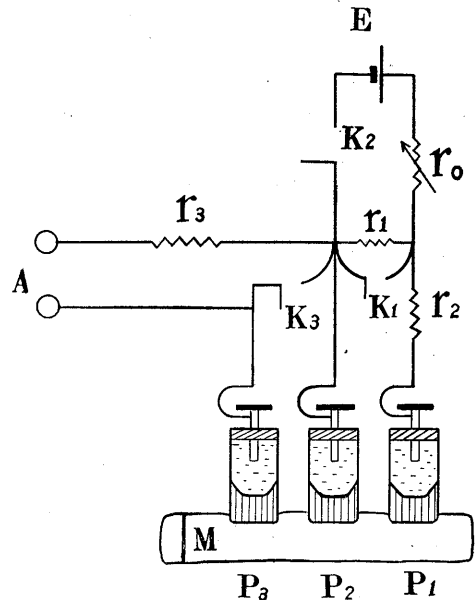


Fig. 1. (A)

(A): Diagram showing the circuit (circuit 3.) to stimulate and record the threshold polarization potential from the muscle.  $r_0, r_1, r_2, r_3$ : resistances,  $K_1, K_2, K_3$ : contact-keys of Helmholtz-pendulum.

E: accumulator, M: muscle  $P_1, P_2$ : stimulating, and  $P_2, P_3$ : recording electrodes. A: Brauntube oscillograph with amplifier. To record the potential, the short circuit key  $K_3$  was opened immediately after the stimulation pulse. E: accumulator (8-10V).

\* 東京大学医学部第2生理学教室 [昭和34年7月9日受付]

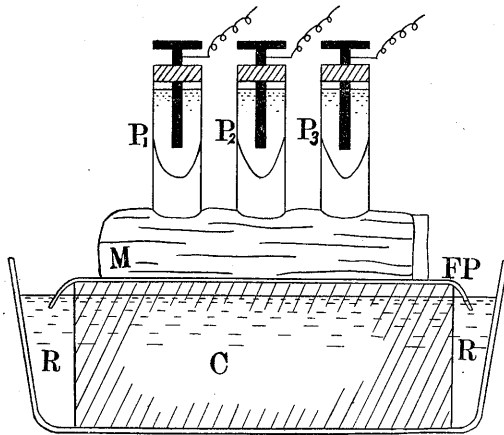


Fig. 1. (B)

Diagram showing the method of monopolar recording of the critical polarization.

P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>: stimulating, and P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>: recording electrodes, M: muscle, FP: filter paper, C: cork bed and, R: Ringer's solution.

Ringer 液に濡れた濾紙上に置いた筋の上に第 1 図のように 3 本の不分極導子を押して刺激陰極に残留する分極起電力を分離して記録する実験をも行なったことである。その際、陽極に就いても検討した。単極の分極電圧を観る第 1 図 (A), (B) の場合 (便宜上第 3 回路とする),

$r_1=400\Omega \sim 200\Omega$ ,  $r_2=200\Omega$ ,  $r_3=100\Omega \sim 200\Omega$  として同一標本の実験に於いては固定する。

$E=8V \sim 10V$ , M はヒキガエルの縫工筋, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> は各々不分極電導子である。先ず K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub> を閉じておき K<sub>1</sub> を開き, 次に K<sub>2</sub> を開き, その直後 K<sub>3</sub> を開くと P<sub>2</sub> と M との接着部を中心として起きていた分極電位は P<sub>3</sub> に流れて A に増巾記録した。K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub> の間隔は一定の短い時間 0.042msec. に固定した。

### III. 実験の結果

筋の場合の困難さは実験中の刺激閾が変動し易く神経の場合に比しこれに因する誤差を免れ難かったことである。殊に第 1 図のように仕切を用いず不分極導子を表面に押しあてる方法では、筋に収縮が起る場合の僅かなズレがないとはいえず、殊に閾の変動の大きかった理由と考えられる。従って同一時間の刺激を繰返して行

なった。

#### 1) 等流搏動刺激

i) 仕切函を用いた場合: この場合の結果は刺激時間の比較的短い範囲では第 1 表第 2 図 (A), (B), 比較的長い範囲では第 2 表第 3 図 (A), (B), (C), (D) の如く, 刺激時間が長ければ分極電位は低く, 期間 20.8msec. の場合, 9.8mV ~ 26.8mV で, 期間 0.125msec. の場合, 20.1mV ~ 45.5mV, 即ち期間 20.8msec. と 0.125msec. に於ける分極電位は後者が前者の 2~5 倍位まで高くなった。

次に分極電位の放電経過をみるに, その半減期は第 3 図 (A) 及び (C) の如く後者が前者の 14~16 倍になった。即ち短かい等流搏動を用いるほど分極が速く放電する。これらの傾向は第 1 報神経の場合と同様である。

ii) 単極の分極を分離した場合: この実験を行なっている間に気付いたのであるが, 不分極導子を筋表面に押しあてるあて方が弱い場合に短かい時間の刺激の方で閾分極が小さく記録されたが, 十分にしっかりと押しあてて置くと短時間刺激の方でやはり閾分極が若干大きく記録された。i) の場合ほど著明ではないが同じ傾向が見られた。

中央極 P<sub>2</sub> を陰極にした時, 分極放電の速さ

Table 1.

Stimulation with constant current pulse by the use of circuit 2 (Report 1, Fig. 2). V, T, VT and  $\pi$  are the same as in Report 1. The duration was varied to relatively small extent. See Fig. 2. A: 2. 6. '59, 22°C. B: 30. 5. '59, 22.6°C. C: 2. 6. '59, 23°C. D: 23. 5. '59, 21°C.

A				B			
V	T	VT	$\pi$	V	T	VT	$\pi$
0.446	6.75	3.01	11.1	0.517	6.75	3.49	15.5
0.795	2.25	1.79	14.0	0.835	2.25	1.88	17.8
1.51	0.563	0.850	16.0	2.03	0.563	1.143	28.6
3.55	0.113	0.399	20.0	0.702	4.50	3.18	18.6
0.599	4.50	2.70	15.3	1.45	1.13	1.64	24.4
1.108	1.13	1.25	16.9	3.13	0.225	0.704	28.6
2.58	0.225	0.581	22.2				

C				D			
V	T	VT	$\pi$	V	T	VT	$\pi$
0.585	6.75	3.80	18.0	0.651	6.75	4.26	20.6
1.038	2.25	2.34	23.3	1.061	2.25	2.43	24.4
2.08	0.563	1.17	26.6	2.24	0.563	1.26	25.5
0.781	4.50	3.52	22.2	0.792	4.50	3.56	23.5
1.43	1.13	1.62	24.4	1.60	1.13	1.81	26.9
3.16	0.225	0.711	27.5	3.71	0.225	0.855	28.6

Fig. 2. (A)  
Threshold polarization potential at different duration of current pulse.

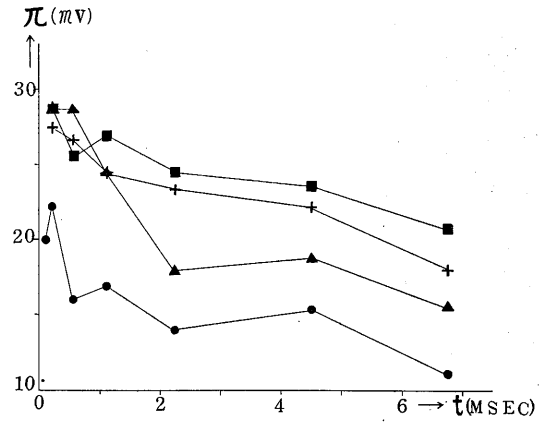
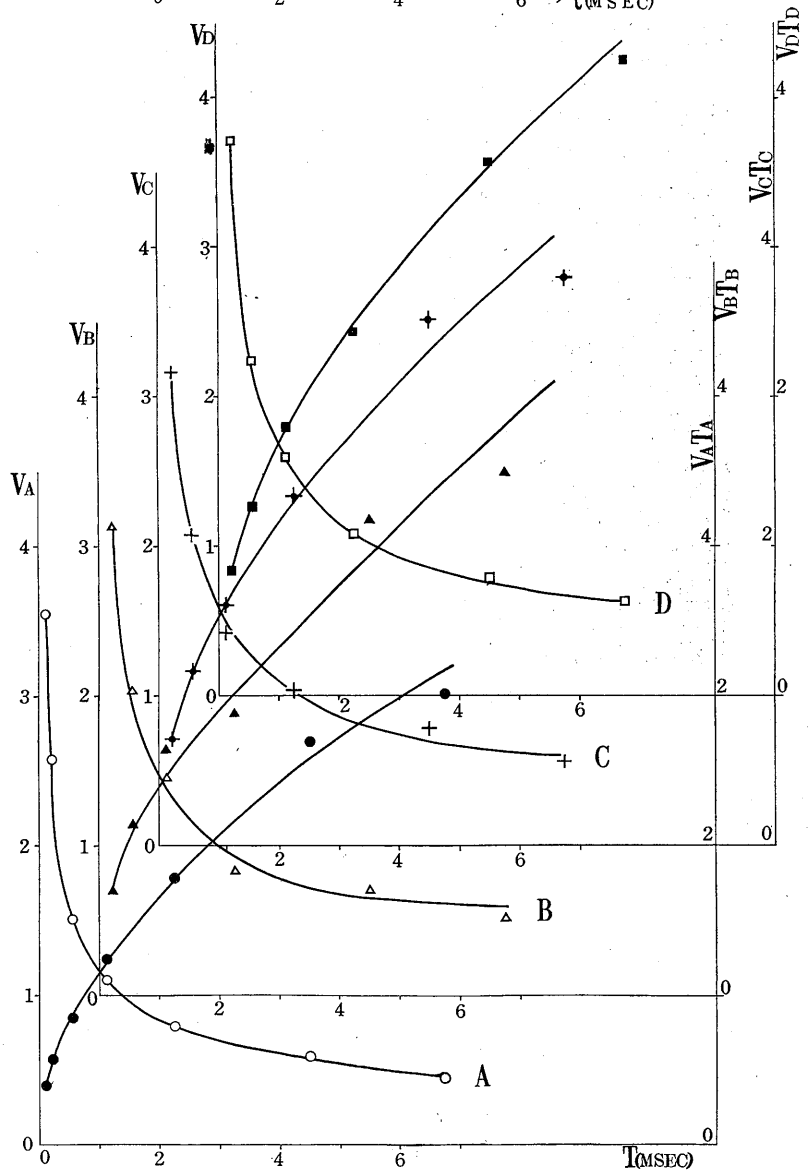


Fig. 2. (B)  
Strength-duration curve.  
Four cases are shown simultaneously as in (A).



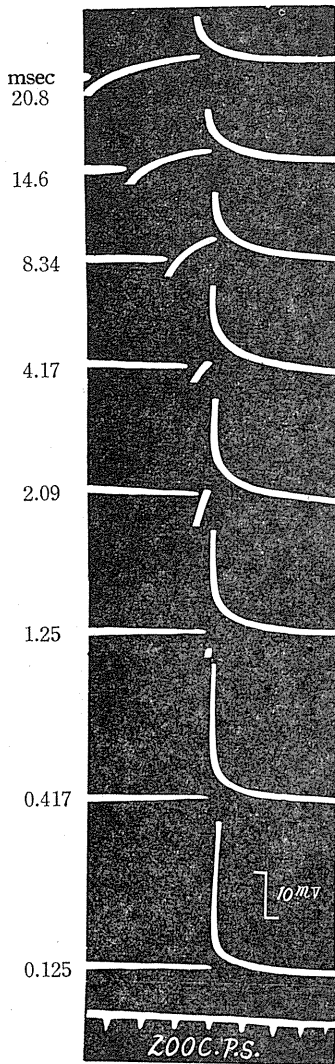


Fig. 3. (A)

Results of recording threshold polarization in the muscle.

(A): Polarization curves after pulses of different duration.

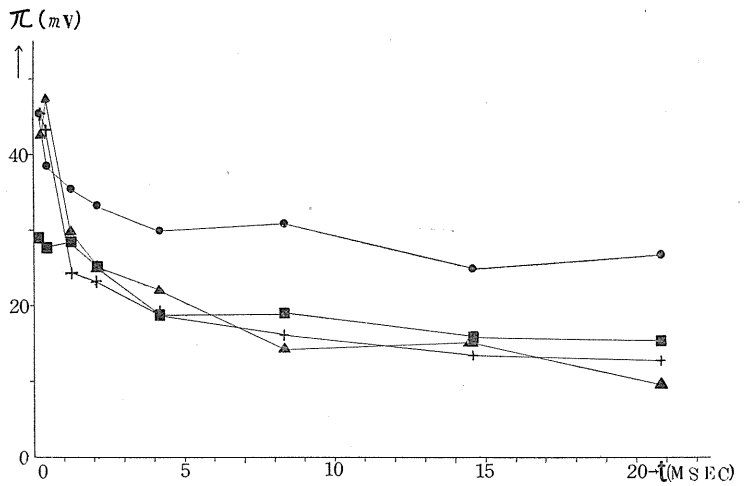


Fig. 3. (B)

Relation between magnitude of threshold polarization and duration of pulse.

Table 2.

A: 18. 6. '59, 23°C. B: 20. 6. '59, 19°C. C: 22. 6. '59, 19°C. D: 16. 6. '59, 19°C.

See Fig. 3.

A				B			
V	T	VT	π	V	T	VT	π
0.303	20.8	6.30	26.9	0.289	20.8	6.01	9.8
0.399	8.34	3.32	30.9	0.611	8.35	4.26	14.4
0.702	2.09	1.47	33.3	1.34	2.09	2.80	24.9
1.95	0.417	0.813	38.7	3.28	0.417	1.37	47.6
0.313	14.6	4.57	25.0	0.482	14.6	7.04	15.5
0.532	4.17	2.22	29.9	0.939	4.17	3.92	22.2
1.045	1.25	1.31	35.5	1.85	1.25	2.29	30.0
3.82	0.125	0.478	45.5	4.24	0.209	0.886	42.6

C				D			
V	T	VT	π	V	T	VT	π
0.352	20.8	7.32	12.9	0.413	20.8	8.59	15.3
0.515	8.33	4.29	16.2	0.652	8.33	5.26	18.9
1.15	2.09	2.40	23.3	1.30	2.09	2.72	25.1
3.24	0.417	1.35	43.3	2.39	0.417	9.97	27.8
0.402	14.6	5.87	13.5	0.467	14.6	6.82	15.8
0.804	4.17	3.35	19.3	0.781	4.17	3.26	18.8
1.55	1.25	1.94	24.4	1.76	1.25	2.20	28.4
4.19	0.209	0.876	45.5	3.58	0.125	0.448	29.1

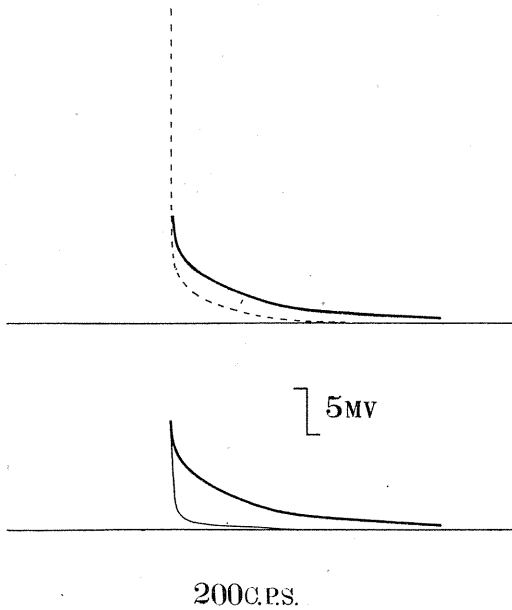


Fig. 3. (C)

Retouched curves of the decay of the polarization after the stimulating current.

Above: original records, steeper curve is obtained after 20.8 msec. stimulation, slower one after 0.125 msec. stimulation. Lower: initial heights of both curves were equalized to compare their slopes.

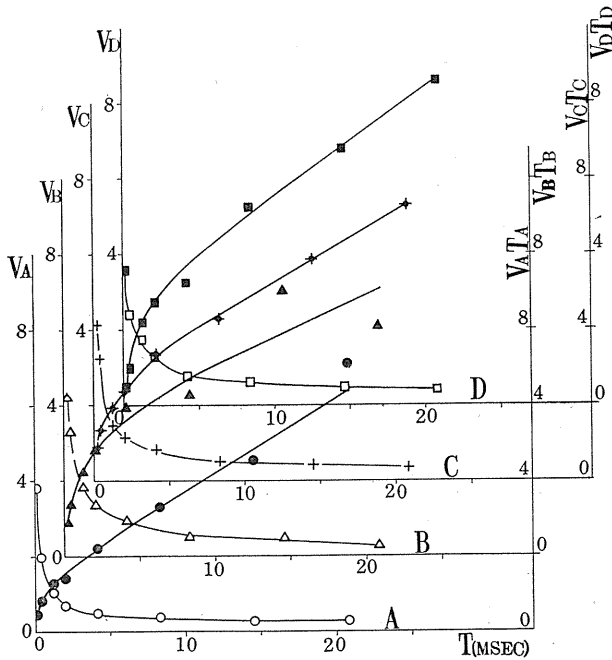


Fig. 3. (D) Four strength-duration curves. See table 2.

Table 3.

Results of recording the polarization potential at the cathode of the circuit 3, in which three electrodes were used. See Fig. 4.

A: 20. 8. '59, 21°C. B: 20. 8. '59, 21°C. C: 13. 8. '59, 21°C.

A				B			
V	T	VT	π	V	T	VT	π
0.096	20.8	2.00	5.0	0.108	20.8	2.25	7.5
0.229	2.09	0.479	6.4	0.182	2.09	0.353	7.2
2.32	0.083	0.193	10.9	1.44	0.083	0.120	10.1
0.197	2.09	0.412	6.4	0.170	2.09	0.364	6.2
0.091	20.8	1.89	4.9	0.100	20.8	2.08	8.2
				1.35	0.083	0.112	10.6

C			
V	T	VT	π
0.110	20.8	2.29	9.8
0.322	2.09	0.673	13.8
0.752	0.209	1.57	15.0
0.314	2.09	0.656	13.4
0.727	0.209	0.152	14.0
0.314	2.09	0.656	13.7
0.094	20.8	1.96	9.6

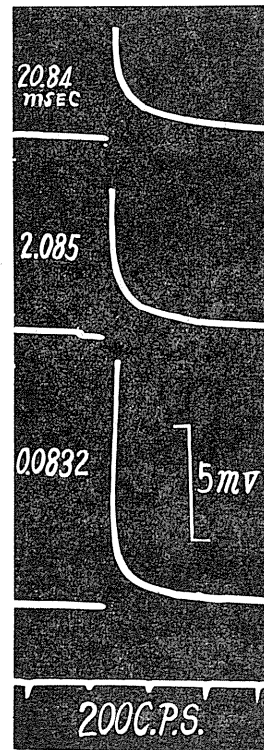


Fig. 4. (A)

Results of monopolar recording (cathode) of the threshold polarization in the muscle. Numerals in (A) indicate duration of pulse (msec). These are the same in Fig. 5, (A).

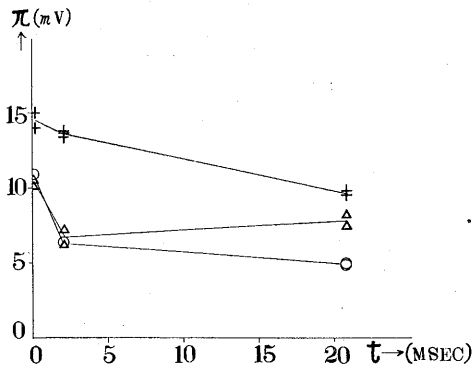


Fig. 4. (B)

Relation between magnitude of threshold polarization and duration of pulse.

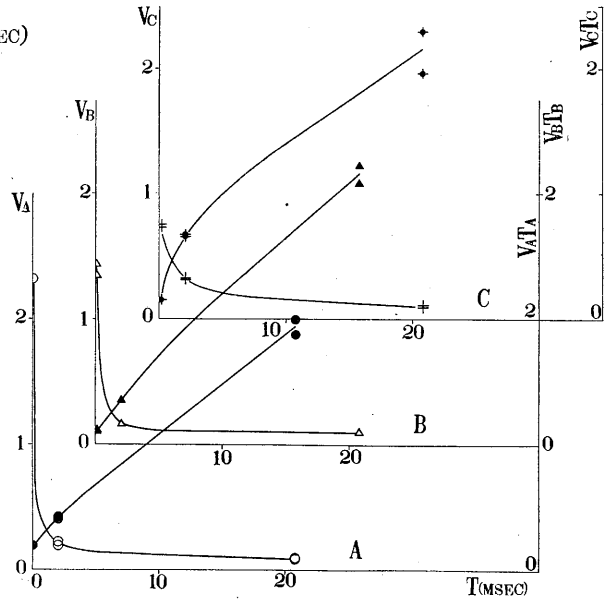


Fig. 4. (D) Three strength-duration curves. See table 3.

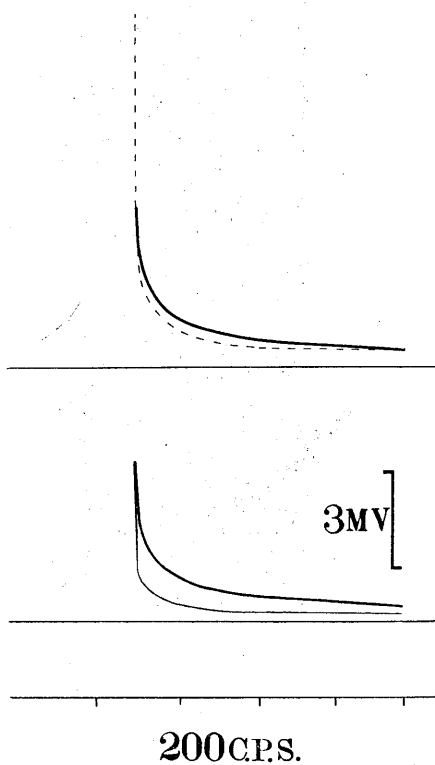


Fig. 4. (C) Retouched curves as in Fig. 3. (C).

Table 4.

Results of recording the polarization potential at the anode of circuit 3. See Fig. 5.

A: 20. 8. '59, 21°C. B: 13. 8. '59, 21°C. C: 15. 8. '59, 19°C.

A				B			
V	T	VT	π	V	T	VT	π
0.139	20.8	2.89	6.5	0.134	20.8	2.79	15.1
0.209	2.09	0.437	6.9	0.208	2.09	0.435	14.5
1.002	0.083	0.083	8.3	0.610	0.209	0.127	18.0
0.216	2.09	0.451	6.9	0.199	2.09	0.416	15.1
1.085	0.083	0.090	7.8	0.166	20.8	2.41	15.0

C			
V	T	VT	π
0.148	20.8	2.97	6.3
0.252	2.09	0.527	7.1
0.677	0.209	0.141	9.2
0.235	2.09	0.491	7.2
0.146	20.8	3.04	8.0

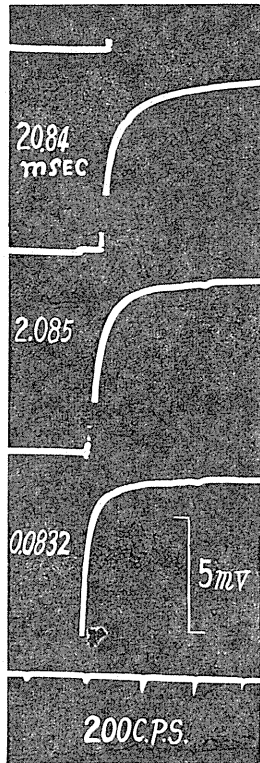


Fig. 5. (A)

Results of monopolar recording (Anode) of the threshold potential in the muscle, numerical data are shown in table 4.

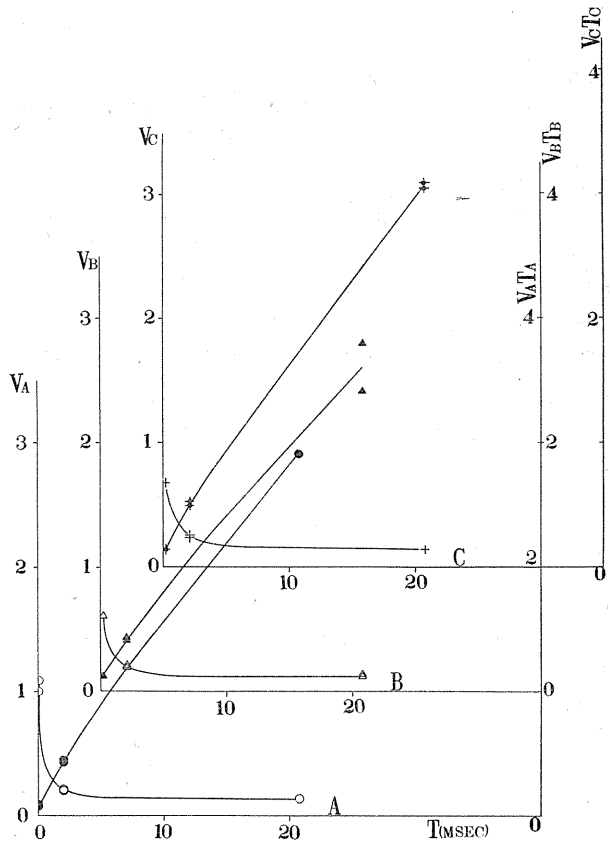


Fig. 5. (C) Three strength-duration curves. See table 4.

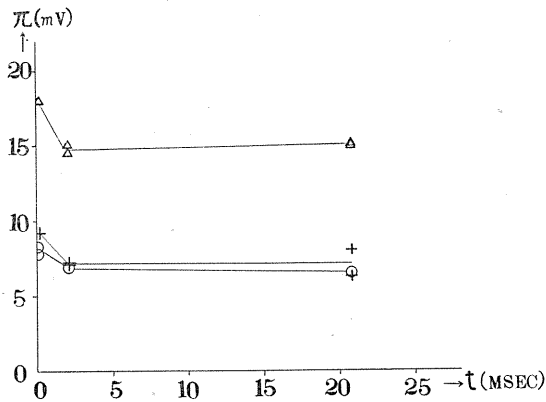


Fig. 5. (B)

Relation between magnitude of threshold polarization and duration of pulse.

Table 5.

Results of experiments with two-steps rectangular pulse. Notations are the same as in table 1. See Fig. 6.

A: 2. 6. '59, 23°C. B: 30. 5. '59, 22.6°C. C: 2. 6. '59, 22°C. D: 23. 5. '59, 21°C.

A				B			
V	T	VT	π	V	T	VT	π
0.262	6.75	1.77	24.3	0.265	6.75	1.79	17.8
0.435	2.25	0.979	25.4	0.469	2.25	1.055	17.6
0.937	0.563	0.528	25.4	0.845	0.563	0.476	16.0
2.24	0.113	0.253	24.5	0.345	4.50	1.55	17.8
0.522	4.50	1.45	25.6	0.711	1.13	0.809	19.8
0.590	1.13	0.667	25.6	1.59	0.225	0.358	18.0
1.48	0.225	0.333	25.9				

C				D			
V	T	VT	π	V	T	VT	π
0.401	6.75	2.71	20.0	0.418	6.75	2.82	27.3
0.875	2.25	1.52	20.4	0.658	2.25	1.48	26.9
1.25	0.563	0.704	20.0	1.103	0.563	0.621	25.3
0.516	4.50	2.32	22.2	0.519	4.50	2.54	29.7
0.908	1.13	1.03	21.1	0.863	1.13	0.975	27.5
2.06	0.225	0.464	23.3	1.47	0.225	0.331	26.9

Fig. 6.

Results of stimulating the muscle with two-steps rectangular pulse. The duration was varied to relatively small extent.  $V_2$  was fixed with constant strength (2.36V, 1.67V, 2.50V, 2.27V for A, B, C and D respectively) and duration (0.225 msec., 0.158msec., 0.113msec., 0.113msec. for A, B, C and D) throughout the experiment.  $V_1$  was varied for critical stimulation.

(A): Magnitude of polarization after the threshold stimulation of different two-steps pulse.

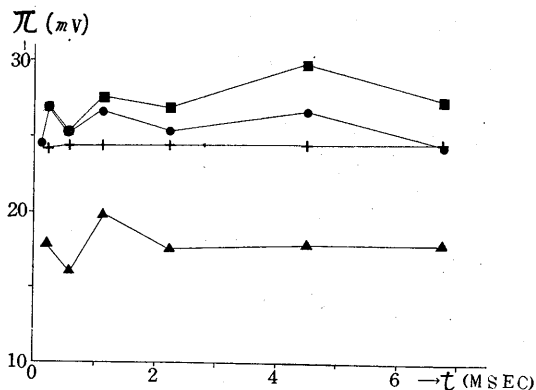


Fig. 6. (A)

(B): Four strength-duration curves.

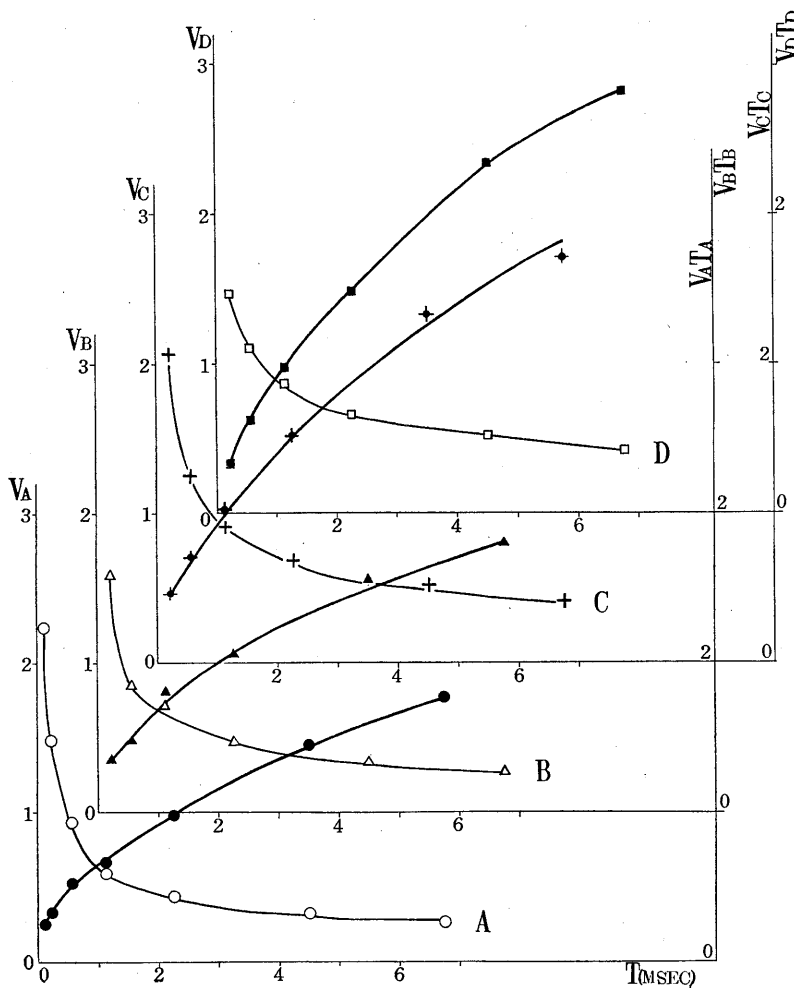


Fig. 6. (B)

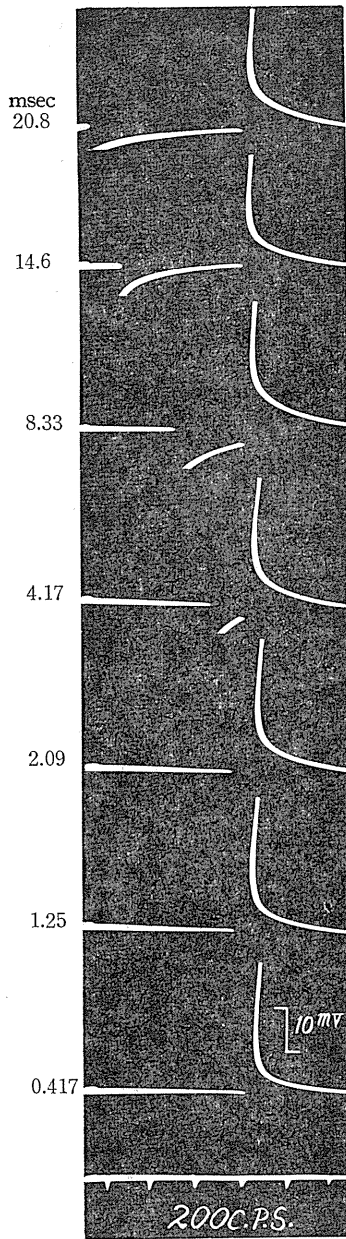


Fig. 7. (A)  
Results of stimulation with two-steps rectangular pulse as Fig. 6.

Table 6.  
Results of recording the polarization of the muscle after the stimulation with two-steps rectangular pulse as table 5.  $V_2$  was fixed with constant strength (2.19V, 2.07V, 2.69V, 3.02V for A, B, C and D respectively) and duration (0.125 msec. for four cases) throughout the experiments.  $V_1$  was varied for stimulation. See Fig. 7.  
A: 18. 6. '59, 23°C. B: 20. 6. '59, 19°C. C: 16. 6. '59, 18°C D: 20. 6. '59, 19°C.

A				B			
V	T	VT	$\tau$	V	T	VT	$\tau$
0.287	20.8	5.97	40.1	0.307	20.8	6.39	24.6
0.325	8.33	2.78	38.9	0.477	8.33	3.97	40.8
0.470	2.09	0.982	38.8	1.005	2.09	2.10	42.0
0.960	0.417	0.400	36.8	0.307	14.6	4.48	26.2
0.248	14.6	3.62	38.4	0.662	4.17	2.76	31.3
0.325	4.17	1.56	37.4	1.12	1.25	1.40	32.9
0.470	1.25	0.588	37.4				
1.44	0.125	0.180	35.7				

C				D			
V	T	VT	$\tau$	V	T	VT	$\tau$
0.398	20.8	8.28	26.6	0.556	20.8	11.6	29.7
0.618	8.33	5.15	26.6	0.755	8.33	6.29	30.4
1.21	2.09	2.53	26.6	1.34	2.09	2.80	30.9
2.21	0.417	0.922	26.6	3.00	0.417	1.25	30.9
0.445	14.6	6.47	31.3	0.485	14.6	7.08	27.8
0.741	4.17	3.09	31.7	0.934	4.17	3.89	29.7
1.69	1.25	2.11	35.8	1.65	1.25	2.04	30.9
2.66	0.209	0.556	30.9				

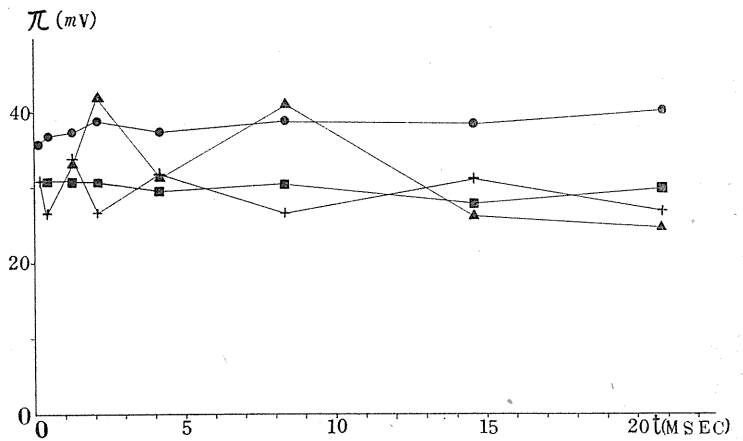


Fig. 7. (B)  
Magnitude of polarization after the threshold stimulation of different two-steps pulse.

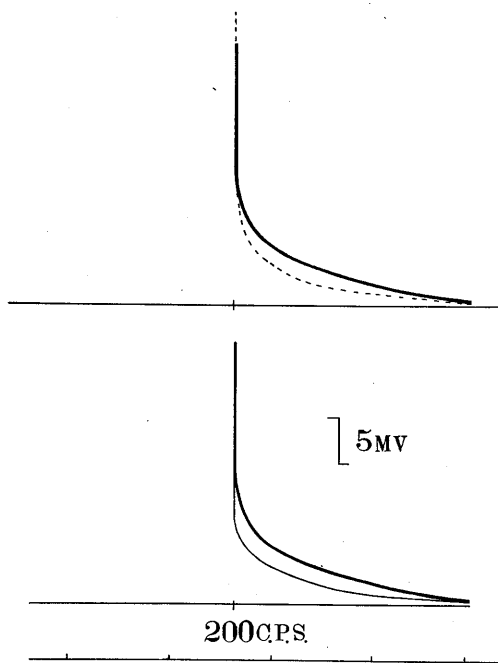


Fig. 7. (C) Discharge of polarization potential as in Fig. 3. (C)

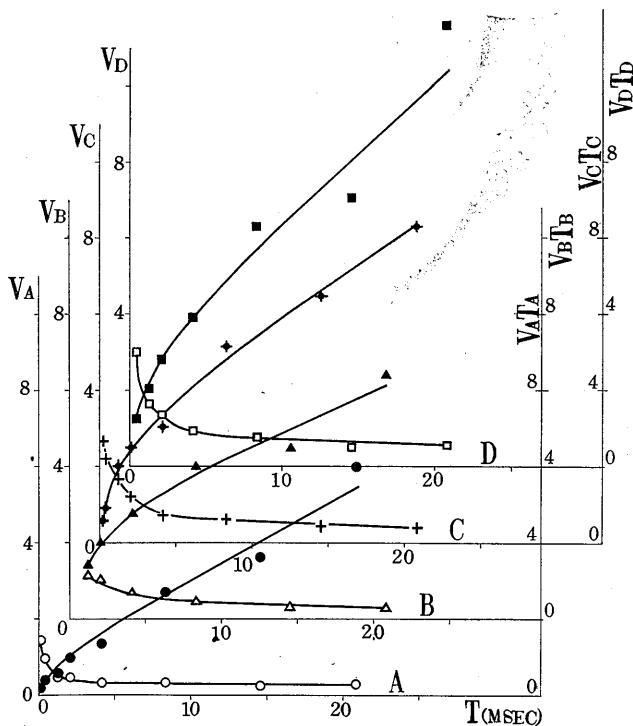


Fig. 7. (D) Strength-duration curves.

を比較するとやはり短い等流搏動刺激は長い等流搏動刺激よりも遙かに速いこと、i) の場合と同様である。尙中央の極を陽極にしておいて閾刺激時の陽極分極を記録してみたが陰極の場合と大差ない結果であった。第3表第4図(A), (B), (C), (D)及び第4表第5図(A), (B), (C)の如くである。

2) 2段等流搏動刺激を用いた場合

2段等流搏動刺激は坂本によれば、第1段電流に対し刺激打消作用を除去し長短刺激に対する打消作用のちがいをなくするものといわれるが、これを仕切電極に入れた筋について実験した結果は次のようである。

分極電位は第5表第6図(A), 及び第6表第7図(A), (B), (C), の如く、期間 20.8msec. に於いて 24.6mV~40.1mV, 期間 0.417msec. に於いて 26.6mV~36.8mV, 同一標本に於ける期間の長短による分極電位の差は、10%~15%で1段電流の第2回路による場合とはちがって極めてその差が少なかった。この場合に仕切が緊密でない時には、期間の短い方の分極が長い場合よりも低く記録されることを経験した。ii) の単極実験の場合と同様の原因であろう。また分極放電の速さを示す半減期については、神経の2段電流刺激の場合には刺激時間の長短による差が極わずかであったが筋の場合には短時間刺激時の放電が長時間刺激時の放電よりも僅かにやはり速いことは否定されなければいけませんが、i) の1段等流搏動刺激の場合に比較すると著しい相違であって、i) の場合に比べるとこの場合には放電速度の差は殆んどないといえるかも知れない。

IV. 考按及び結論

本実験の結果は、第1報神経の場合

と異なるものではなく、神経、筋ともに被刺激性形態共通の基本的な性質がここに示されるものであろう。

神経と異って筋には収縮という活動があるので閾上の刺激で収縮が起ると電極部に多少の条件変化が起る可能性がある。且つ元来が神経よりも遙かに代謝の盛んな細胞であるから細心の

注意を払ったつもりでも実験施行の間に閾の自然変化を免れ難いので、神経の場合よりも実験精度の低い結果となった。閾の変化と分極の大きさとかいかに関係するか、即ち閾が変化しても閾分極は同じなのか、それとも閾の変化とともに閾分極も変化するのか、本実験は特にこの点の検討を目的としたものではないが重要な事柄であるから今後の実験に譲り度い。本実験では能う限り閾の一定な条件の下で閾分極を求めたのである。

Table 7.

Table indicating the results of Fig. 8.  
28. 12. '38, 16°C.

V	T	VT
0.345	33.2	11.45
0.572	4.95	2.81
1.142	1.32	1.51
1.132		1.49
0.462	9.74	4.50
0.316	84.4	26.6
0.353	33.2	11.7

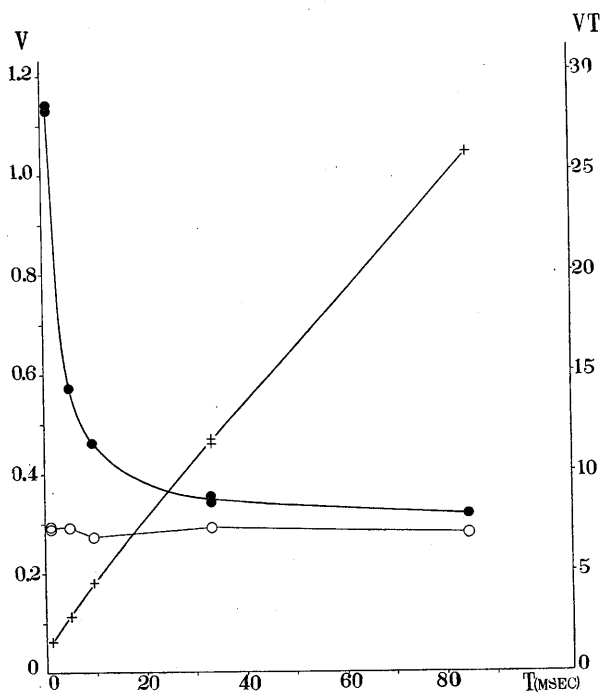


Fig. 8.

Strength-duration curve and threshold polarization potential (relative height). An example of previous experiments by Wakabayashi.

His experiments was carried out in fairly constant condition. But the threshold polarization at the short duration was not large, probably due to inertia of the recording instrument used by him.

前に本実験と同じ様な実験を1段等流搏動刺激で行なった若林<sup>7)</sup>、小溝<sup>8)</sup>は、閾分極はほぼ一定であると報告している。若林は記録に電磁オシログラフを使用しているので短時間刺激で鋭い分極のスパイクがあっても記録されない惧れがありこの点不完全たるを免れない。小溝はブラウン管装置に分極を記録したが閾分極の大小は認めていない。しかしながら、若林(未発表)は閾の安定に注意して多数の実験を行なったのでその1例を借用して示したのが第7表第8図である。本例は閾値が2~3%の間に決定されているのであるが強さ-期間曲線は著者の得た曲線と同様である。

本実験の結果から論ぜられることは神経の場合と同様、電流刺激の際に起る閾分極は刺激自体に伴う刺激打消作用<sup>13)14)15)16)17)18)19)20)21)22)23)</sup>によって、刺激時間の長いか短いかによって相違があり決して一定したものではなく、この結論は普通の刺激論では説明されず坂本の理論ならびに実験の結果から理解される。更に坂本の考案した2段等流搏動刺激を行なうときは筋に於いても閾分極が一定に近づいてくるといふ結果も亦坂本理論から期待されることで、更に生じた分極の放電する経過をみると1段等流搏動では、長時間刺激と短時間刺激とで著しい遅速がある。短時間の強電流の後と長時間の

弱電流の後とでは、たとえ境界膜部のイオンの濃度が同一でもその空間的な濃度分布は同一とは考えられず、従ってその放電経過に遅速のあることは計算をまたずともよく想像せられる事である。この事実は上記の結果を説明するものと考えられる。1段等流搏動の短い搏動では濃度の空間的勾配が急で搏動終了直後の逸散が長い搏動に比して著しい故に刺激の為により高い分極が要求せられるものと考えられる。それは単に濃度とか分極が一定になれば興奮が起るのでなく、そこにある過程、坂本によって stimulation process と呼ばれたものが興奮の前に生起しなければならぬことが刺激打消の可能な事実から考えられることと考え合わせて統一的に理解し得られるのである。

以上は何れも質的ではあるが坂本の理論(1938)を別な角度から検討してその適合することを示したものと考える。

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御指導と本稿の校閲を賜った若林勲教授および常に御指導御援助の労を惜まれなかった先輩ならびに教室員の方々に衷心より感謝致します。

#### 文 献

- 1) Nernst, W. (1908) Zur Theorie des elektrischen Reizes. Pflügers Arch. **122**, 275
- 2) Hill, A. V. (1901) A new mathematical treatment of changes of ionic concentration in muscle and nerve under the action of electric currents, with a theory as to their mode of excitation. J. Physiol. **40**, 190
- 3) Miyazaki, H. (宮崎彪之助) (1927) Beiträge zur Theorie der elektrischen Reizung. The Journal of Biophysics **2**, LXV-LXX III
- 4) Blair, H. A. (1932) On the intensity-time relations for stimulation by electric currents. J. gen. Physiol. **15**, 709
- 5) Hill, A. V. (1936) Excitation and accommodation in nerve. Proc. Roy. Soc. Lond. B. **119**, 305
- 6) Hans Schaefer (1938) Der Elektrotonus und die Erregungsgesetz des Muskels. Pflüger's Arch. **241**, 310-341
- 7) Wakabayashi, T. (若林勲) (1940) Über die Polarisation des Muskels bei der Schwellenreizung mit den konstanten Stromen. Jap. J. Med. Sci. III. Biophysics **6**, No. 4
- 8) Komizo, K. (小溝協三) (1940) On the electric polarization of muscle produced by a few sorts of stimulating current. Jap. J. Med. Sci. III. Biophysics. Vol. **6**, No. 4
- 9) Schöpfle, G. M. and Susman, N. (1950) Physical significance of strength-duration curve for excitation of nerve. J. Neurophysiol. **13**, 289-293
- 10) 坂本嶋嶺 (1938) 被刺激性と興奮性 日本生理学会編生理学講座第2巻2 A
- 11) S. Sakamoto (坂本嶋嶺) (1936) Über die schwache Krümmung der Reizzeit-Quantitätskurve bei der elektrischen Reizung einer einzelnen motorischen Nervenfasers. Jap. J. Med. Sci. III. Biophysics. **4**, No. 4
- 12) 坂本嶋嶺 (1932) Zur Theorie über Polarisation und elektrische Reizung der Nerven faser. Jap. J. Med. Sci. III. Biophysics. **2**, 167\*
- 13) Kries, J. V. and Sewall, H. (1881) Über die Summierung unter normale Reize in Muskeln und Nerven. Arch. F. Physiol. 66-77
- 14) R. Dittler, (1925) Die "Reizzeit" von Induktionsschlägen von verschiedener Stärke. Z. Biol. **83**, 29
- 15) Heimsoth, F.-A. (1935) Über die "Reizzeit" rechteckiger galvanischer Stromstöße verschiedener Stärke. Z. Biol. **96**, 459
- 16) Sakamoto, S. (坂本嶋嶺) (1937) Über das "Kritische Intervall" bei der elektrischen Reizung des Schmerzorgans des Zahnes. Jap. J. Med. Sci. III. Biophysics. **4**, No. 4
- 17) Matsumoto, M. (松本政雄) (1938) Das kritische Intervall bei der elektrischen Reizung einer einzelnen motorischen Nervenfasers. Jap. J. Med. Sci. III Biophysics **5**, 25\*
- 18) Matsumoto, M. (1942) Elektrische Reizung der motorischen Einzelnervenfasern durch zwei rechteckige Stromstöße. Jap. J. Med. Sci. III. Biophysics. **8**, 93
- 19) 海野 一 (1956) 活動電流の潜伏期と刺激作用の打消について 電気生理学研究 (昭和医科大学生理学教室研究報告) **9**, 23
- 20) 小町谷智 (1956) 陽極開放刺激の打消に関する研究 電気生理学研究 (昭和医科大学生理学教室研究報告) **13**, 103
- 21) 小川義市 (1957) 神経線維ならびに筋線維に於ける刺激作用の打消について 電気生理学研究 (昭和医科大学生理学教室研究報告) **15**, 1
- 22) 高木昌美 (1957) 心筋条片の刺激作用打消しについて 電気生理学研究 (昭和医科大学生理学教室研究報告) **15**, 85
- 23) 小川太郎 (1959) 平滑筋の興奮性に関する研究, 尿管の刺激作用打消について 電気生理学研究 (昭和医科大学生理学教室研究報告) **19**, 61
- 24) 宇都 力 (1959) 神経幹の等流搏動刺激における閾分極の研究 日本生理誌 **21**, 1159

### Summary

Present experiment was carried out on the muscle along the line of the previous report on the nerve. The general acceptance that the attainment of the common critical value of ion accumulation evoked by the stimulating current is enough for initiation of excitation must be revised from the stand point of Sakamoto's theory. To test this point, the polarization potential (strictly speaking—depolarization potential), which is considered to be closely correlated to the ion accumulation, was investigated with various duration of current. The result showed that the threshold polarization potential for short duration of current are higher than that for long duration (Fig. 2., 3.). And by applying the two-steps-current stimulation after Sakamoto the common critical polarization potential was obtained as was expected from the theory (Fig.6., 7.). These results are the same as in the case of the nerve. Besides, by the use of three electrodes (Fig. 1.) for separating the polarization at the cathode from that at the anode or vice versa, the critical potential showed the same tendency (Fig. 4., 5.).

All the results are consistent with Sakamoto's excitation theory as in the previous report.

*(Department of Physiology, School of Medicine Tokyo University)*

# 視床下部刺激によつて学習された猫の行動の

条件づけについて 612. 833. 81 : 612. 826. 4

Conditioning of a Learned Behavior Motivated  
by Hypothalamic Stimulation in Cats.

中尾 弘 之 (NAKAO-Hiroyuki) \*

## I. 緒 言

視床下部刺激を開始すること、或いは中断することを報酬として、或る特定の行動を学習させることは比較的容易であり、前者の例としては、鼠についての Olds and Milner<sup>10</sup>, Olds<sup>9</sup>, Bower and Miller<sup>5</sup> 等の実験、及び猫についての Roberts<sup>13</sup> の実験がある。後者の例としては、鼠における Bower and Miller<sup>5</sup>, 猫における中尾<sup>7</sup>, Roberts<sup>12</sup> の実験、および山羊における Andersson and Wyrwicka<sup>2</sup> 等の実験がある。

然し、視床下部刺激によっておこる反応自体を、他の中性の知覚刺激に条件づけることは比較的難しい。Masserman<sup>6</sup> は猫の視床下部刺激による情緒行動反応を音或いは光に条件づけようとしたが失敗した。Andersson and Larsson<sup>1</sup> も山羊の視床下部刺激によっておこる多飲反応を音或いは光に条件づけようとして失敗している。

所が最近、伴及び篠田等<sup>3,4</sup> は、家兎の視床下部を刺激して得られる自律神経性反応を、音に結びつけて条件反応を形成させ得たと報告した。中尾<sup>7</sup> は、猫の視床下部刺激による情緒行動反応が音に条件づけられること、又その刺激効果が特定の環境に条件づけられて、猫がその場所を忌避するようになり、このようにして待避行動が成立することを報告した。

今回は、猫の視床下部刺激によって獲得せられた学習行動を、音に条件づけようと試みたのでその結果を報告する。

## II. 方 法

木片押しの学習行動の詳細については既に発表したが<sup>8</sup>, これを簡単に記すと、第1図のような実験箱に入れられた猫が、特定の窓の外にさがっている木片を押せば、刺激回路の接点はずれ、猫の視床下部に流れている刺激電流が断たれるようになっている。この学習行動が成立するための条件は、視床下部の電気刺激によって、猫に逃走-恐怖がおこることである。

本実験では6匹の猫(C1~6)にこの木片押しの行動を学習させ、1日20回試行の平均行動潜在時間が、連続3日間、略一定になる基準に到達するまで訓練を行なった。この訓練の後、条件反応形成の実験を始めた。条件刺激にはブザー音

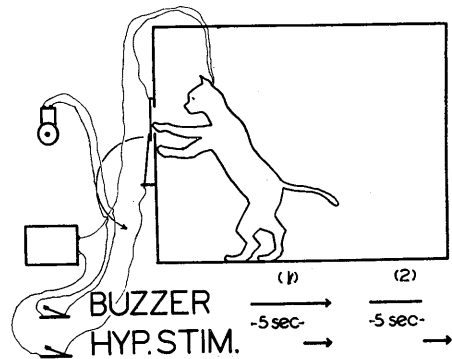


Fig. 1.

### Methods of conditioning.

In advance, the cats were trained to push the paddle to turn off the hypothalamic stimulation which produced flight-fear response. Then, a buzzer which preceded the hypothalamic stimulation by 5 seconds was introduced. If the cat pushed the paddle within 5 seconds, the buzzer stopped and the hypothalamic stimulation was avoided.

\* 徳島大学医学部神経精神医学教室 (今泉恭二郎教授)

[昭和34年8月19日受付]

を用いたが、これと視床下部刺戟との組み合わせは、第1図に図示したように二通りあり、C1, C2, C3 では、ブザー刺戟開始後5秒して視床下部刺戟をはじめ、猫が木片を押して視床下部刺戟を中断すると同時にブザーもやめた。C4, C5, C6 では、ブザーを5秒間鳴らし、ブザーが終ると同時に視床下部刺戟を開始した。

最初の5秒間に、即ちブザーが鳴っている間に猫が木片を押せば、ブザーは中止され、且つその回の試行では視床下部刺戟は与えられなかった。試行(強化, 消去等)の間隔は不規則な2~5分間隔で、視床下部刺戟は60サイクル交流, 2V 以下を用い、実験中、刺戟電圧は夫々の猫について一定であった。20回試行を1系列とし、原則として連続毎日1系列ずつ実験を行なった。実験室は普通の室であつて、防音設備はなく、実験はなるべく静かな時を選んで行なった。

実験終了後は脳を10%ホルマリンで灌流固定し、アルコール脱水、パラフィン包埋を行ない、40 $\mu$ の切片を作つて髄鞘染色をし、刺戟部位を確かめた。

### Ⅲ. 結 果

視床下部刺戟に基づいて獲得した木片押しの学習行動が、ブザーで起るようになったのは、C1, C3, C6, の3匹である。第1表にこの条件反応成立の過程を示した。この経過を述べると、

C1 は第3系列からブザーで木片を押し始め、第6系列で20回試行中、10回条件反応がみられた。第7系列では行動潜時を測定するため、この猫の実験では始めて記録計を回転させ始めた所、モーター音が相当強いため条件反応は全く出現せず、即ち外制止がみられた。次いで第8系列以後は、ブザー刺戟のみ与えて視床下部刺戟は与えず消去を試みた。その結果条件反応は急速に消失していった。これら実験期間中、この猫は非常に活潑で、実験箱内では絶えず歩き廻り、啼き、時にはブザーや視床下部刺戟を与えなくても窓に近づき、窓の縁に嘔みついたり、

	Date	Response	CR	
Cat-I	5-15 '57	00000000000000000000	0	
	-16	00000000000000000000	0	
	-17	00000000000000000000	2	
	-18	00000000000000000000	5	
	-19	00000000000000000000	9	
	-20	00000000000000000000	10	
	-21	00000000000000000000	0 I*	
	-30	#####	1	
	-31	#####	0	
	Cat-3	8- 2 '57	00000000000000000000	0
		- 3	00000000000000000000	3
- 5		00000000000000000000	10	
- 6		00000000000000000000	16	
- 8		#####	9	
- 9		#####	8	
-13		#####	3	
-14		#####	2	
-15		#####	0	
-19		#####	3	
-20		-----	2*	
Cat-6	2- 7 '59	00000000000000000000	0	
	- 8	00000000000000000000	0	
	- 8	00000000000000000000	0	
	- 9	00000000000000000000	0	
	-10	00000000000000000000	2	
	-11	00000000000000000000	6	
	-12	00000000000000000000	2	
	-13	00000000000000000000	5	
	-14	00000000000000000000	0 3*	
	-16	00000000000000000000	0 4*	
-17	00000000000000000000	4		

Table 1.

Process of conditioning.

0: The cat pushed the paddle in response to the hypothalamic stimulation after the buzzer.

●: A conditioned paddle-pushing to a buzzer. The cat pushed the paddle within 5 seconds after the beginning of the buzzer.

#: Only a buzzer was introduced and the cat did not respond to it. Sessions with # are for extinction.

1\*: Motor noises sounded in this session and external inhibition resulted.

2\*: Pipradrol (2mg/kg, im.) was administered. The animal became quite sensitive and responded to any sound in pushing the paddle. Finally, the animal disturbed the setting of the paddle with pushing on the paddle.

3\*: Ritalin (5mg/kg, im.) was administered.

4\*: Pipradrol (2mg/kg, orally) was administered and the animal became restless.

外を覗いたり、前肢を窓から出したりした。実験箱には、木片がさがっている窓とそうでない窓と2つあって、この猫は普通は両方の窓へ無選択的に近寄つたけれども、ブザーおよび視床下部刺戟では、必ず真直ぐに木片のある窓に向

い、決して別の窓には行かなかった。ここに、条件刺戟がある時とない時との行動の違いがみられ、これによつても、条件刺戟で木片を押す行動は、決して偶然の行動の一致ではない事が分る。又、ブザーは実験箱の外壁に取り付けてあったが、猫は試行間に、屢々窓から前肢を出してこのブザーを引っ掻こうとした。第9系列では、猫は1回も条件反応をおこさなかったが、実験箱内では絶えず見廻わしていた。

C3 は落ちついた猫で、実験箱内でも至極く平静であり、坐っているか蹲っていた。この猫では条件反応の形成が早く、第4系列で既に20回試行中16回の反応がみられた。消去もC1より時間がかかり、第8系列で完全な消去がみられた。然しこの後3日間休み、4日目に強化を行なわずブザー刺戟だけ与えた所、20回中3回の条件反応が現われ、自発的回復がみられた。この猫はC1と異なり、ブザー或いは視床下部刺戟がない限り決して窓に近づく事のなかった猫であったが、第10系列で Pipradrol Hydrochloride 2mg/kg を筋注し、15分後から実験を始めた所、非常に過敏になっていて、木片に刺戟回路が接続せられた気配や、ブザー以外のあらゆる物音によつても木片を押すようになり、筋注後25分目頃からは、窓から前肢を出して木片を押しのけたまま、回路の接続を絶えず妨害し、遂に実験の開始が不可能となってしまった。

C6 は実験箱内で平静な猫であった。条件反応の形成はおそく、且つ不安定で充分とはいえなかった。この猫では強化の最初から記録計で行動潜時を測定したが、各系列の平均値を示すと、第4系列(20回平均)-0.54秒、第5系列(18回平均)-0.47秒、第6系列(14回平均)-0.47秒、第7系列(18回平均)-0.46秒、第8系列(15回平均)-0.52秒であった。第9系列では、Ritalin (CIBA 製薬) 5mg/kg を筋注し15分後より実験を始め、1時間で終わったのであるが、条件反応は完全に消失した。然し行動潜時は20回平均で0.35秒と短縮していた。条件反応は消失してしまつたので、この行動潜時の短縮は、Ritalinに

よつて視床下部の興奮性が増し、動因が増強された結果であると俄かに断定することは出来ない。もしそうだとするならば、行動潜時の短縮と同時に、条件反応の出現が増さなくてはならないからである。第10系列では、Pipradrol Hydrochloride 2mg/kg を内服させ、60分後より実験を始め1時間で終了した。猫は落ちつきのない挙動を示したが、C3とは異なりブザーにも全然反応せず、平均行動潜時は0.50秒と大体普通の平均値を示した。第11系列では再び条件反応が現われ、行動潜時(16回平均)は0.35秒に短縮した。この日はPipradrol内服の翌日であつて、猫は依然として落ちつきがなく過敏で、周囲の刺戟によく注意をむける状態であつた。

残りの3匹は、なかなか条件反応が形成されなかった。C2とC4とは140回の強化を行なつたが、条件反応は現われなかった。C4は実験箱の中でブザーをきくと、啼き始めたので、何等かの影響はあつたものと考えられる。C5は100回強化したが、やはり条件反応は成立しなかった。この試行の後、視床下部刺戟のみで木片押しを行なつた時の行動潜時と、ブザーを先行させ、後続する視床下部刺戟で木片を押させた時の行動潜時とを、夫々10回試行の平均をとつて比較してみると、その値は1.84秒と1.82秒であり、ブザーの影響は認められなかった。

上述の、条件反応形成と非形成の2群の猫について、その一般行動と性質を比較してみたが、この両群の間に差は認められなかった。以上の猫の視床下部刺戟部位は、前視床下部で、弓隆と第3脳室壁との間に散在していた。

#### IV. 考 察

視床下部刺戟によつて木片押しの学習行動を獲得した猫について、音刺戟を視床下部刺戟に先行させて強化を重ねると、音刺戟によつて木片押しの行動が行なわれるようになり、且つこの反応に、制止、消去、汎化、及び自発的回復等の現象がみられた。伴及び篠田等<sup>3,4)</sup>の実験においても、本実験と同じく視床下部刺戟を無

条件刺激としているが、それによって現われる反応の本質が本実験とは異なっている。彼等の実験では、視床下部刺激により必ず現われる自律性反応が無条件反応であつて、これは本来の意味における無条件反応であるけれども、本実験で無条件反応として取り扱っているものは、1つの学習行動、換言すれば1つの条件行動であつて、従つて、本実験での条件反応は第二次条件反応ともいうことが出来る。

この条件反応形成の神経機構を考えてみたい。そもそも条件反射の中核機構について、Pavlovの時代から考えられている説明は、無条件刺激による知覚領の興奮が、条件刺激による知覚領の興奮の拡張と結びつき、やがて条件刺激が無条件刺激の代役となる、或いは、予報的な性質を帯びた信号となることが、条件反射形成の機構であるということであつた。所で本実験のように、視床下部刺激を無条件刺激とする条件反応の成立においては、無条件刺激による特定の知覚領の興奮というものはなく、従来の条件反応の説明ではこの現象の説明が出来ないことはいうまでもない。これを別の立場から考えてみると、前に発表した通りに<sup>7)</sup>、猫の足に電気ショックを与え、もし猫がこの時に木片を押せば電気ショックが断たれるようにしておくと、やがて猫は刺激開始後短時間で木片を押すようになる。次にこの電気ショックにブザーを先行させると、猫はブザーで木片を押すようになり、最後に、視床下部を直接刺激して、逃走恐怖をおこさせるとやはり同じく木片を押す。この3つの実験について、行動の原動力となる動因という概念を持ちこんで考えてみると、条件刺激と無条件刺激との夫々の皮質中枢の一時的結合が条件反応形成の過程であるというよりも、もっと端的に、中性であつた知覚刺激が無条件刺激によるのと同じ動因をおこすようになるのが、条件反応形成の過程であると考えることが出来る。ここでいう動因は決して非生理学的な概念ではない。現在、視床下部を刺激することによって、種々の動因を任意の強さで誘発出来ることが分つていて、この意味では、動因

は視床下部の神経機能の一面を表わす言葉であるといえる。

以上の事を刺激-反応の行動系列から説明してみたい。外界刺激によっておこる動物の行動は、外界刺激→受容(1)→認識、或いは解釈といつてもよい(2)→動因(3)→方向づけ(4)→行動(5)の5形成過程に大別する事が出来、各々の意味については前に発表した<sup>8)</sup>。この分類から外界刺激を与えておこる普通の条件反射、所謂古典的条件反射を考えてみると、条件刺激から生じた知覚に対し、側頭葉皮質の一部に貯えられている個体の経験や記憶<sup>11)</sup>によって、この知覚に個体特有の意義が附与され、再構成が行なわれ、その知覚が中性の性質を失ない、無条件刺激によっておこされる動因と同じものをおこす動因刺激(動因を直接賦活する刺激)となる過程が条件反射形成の過程と考えることが出来る訳で、この部分は上記の分類の第2の過程である。この動因刺激は視床下部に達して動因を生ずる。普通の条件反射ではここが終点であつて、その強さが動因の強さに比例して生ずると考えられる自律神経性反応、例えば唾液分泌、瞳孔開大、心搏増加、GSR等の変化が条件反射の指標となっている。興奮が更に進んで方向づけから最終行動となると、別に体制神経系の活動が加わり、脳内過程も一段と複雑になる。この方向づけの機能というのは、動因によって行動をおこそうとする個体が、その置かれている事態に適応するように行動を修正、決定する大脳皮質の機能であつて、学習行動、条件行動、道具的条件反応等と呼ばれる行動の形成は、この過程をも含むものである。このように考えると、外界刺激から始まる諸種の条件反応を、1つの行動体系の中に還元する事が出来て便利である。現在この分類の妥当性を諸種の行動実験によって検討し、又この分類に対応する神経機構およびその相互の機能的関係を追求中であるが、要するに、このような考えからみても、本実験での条件反応が、伴及び篠田等の報告した条件反射より複雑な神経過程を持っていることは明らかである。然し動因を中心にして考える

限り、本実験の条件反応は、痛み刺戟による逃避行動を音に条件づけた普通の条件待避行動と本質的に何等変る所がない。即ち、痛み刺戟によつて動因をおこす代りに、視床下部を刺戟して直接に動因をおこしたという差があるだけである。

所で、この2種の実験の結果を比較してみると、視床下部刺戟で木片押しを学習した6匹の猫の中、強化の第5系列(100回)までに条件反応が現われるようになったのは、3匹の50%である。且つこの3匹が、第4系列においてプザーで木片を押しした回数の平均は、20回中7回であった。一方既報実験<sup>7)</sup>の記録からデータを拾ってみると、痛み刺戟で木片押しを学習させた10匹の猫では、これをプザーに条件づけるのは比較的簡単であつて、1乃至2系列の強化で既に全例の猫(100%)に条件反応が現われ始め、又これらの第4系列における条件反応出現の平均は、20回中17回であり、例数が少ないので結果をそのまま比較する事は出来ないにしても、本実験の方法による条件づけが、痛み刺戟による条件づけよりも遙かに難しいことが分かる。理論上はこの両者に本質的な差はないと考えるに拘らず、実際の結果にこのように著しい差が出て来る原因は、動因の強さに求めなくてはならない。条件反応においては、条件刺戟により生ずる動因の強さは、無条件刺戟による動因の強さより弱いものである。一般に視床下部刺戟により出現する諸種反応を観察してみると、行動をおこすための閾値は、自律神経性反応をおこす閾値よりも高い。従つて、もし無条件刺戟としての視床下部刺戟で生ずる動因が十分に強くなかつた場合、条件刺戟による動因の強さは更に弱く、自律神経性反応をおこす閾値にも達しないか、或いはそれに達しても、尙行動を発動する閾値には達しない状態があり得るのであつて、この場合、自律神経性反応の条件づけは成立していても、行動の発動と条件づけの指標としている限り、条件反応は不成立と見做されるのである。今迄、2, 3の研究者が、視床下部刺戟による情緒行動を条件づけることに失敗し

た原因はいろいろ考えられるが、1つの原因はここにあると思われる。それ故、視床下部刺戟(無条件刺戟)によつておこる動因を充分強くすれば、条件反応は成立し易くなると考えられるが、これは刺戟電流を単に強めるだけで解決出来る問題ではない。これには、現在の刺戟法のもつ非生理的な面、つまり、刺戟電流の強さ、頻度、波形、密接している他の動因中枢への電流の物理的波及、本実験で行なつた視床下部の一側性刺戟等を改善して、より生理的な方に近づけなければならない。もしこれが幾分でも改善出来たら、理論と実際の結果の差は縮小してくるものと思われる。然し、現在の方法でも、原理的なものの解明には差し支えがない。

又 Pavlov は、条件反射形成の良否には、動物の気質ともいふべきものが関係することを示した。彼によると条件反射形成の特徴から、犬に4型の神経型があるといつている。この点も本実験で考慮しなくてはならない事であるが、本実験では使用した猫の数が少なく、これについては何も結論を出すことは出来なかつた。

尙本実験において、精神薬が種々の影響を及ぼすことが観察されたけれども、これも例数が僅かで、これら薬剤と条件反応との関係を考案することは出来なかつた。

## V. 結 論

視床下部を刺戟して逃走-恐怖をおこさせ、これを動因として木片押しを学習させた猫について、今度は視床下部刺戟を与える前に5秒間プザーを先行させ、プザーを条件刺戟とする条件反応(木片押し)の形成を試みた。実験に使つた猫は6匹で、その中3匹に条件反応が成立し、消去、外制止、自発的回復、汎化等の現象がみられた。

この条件反応の形成過程を分析し、これは音-痛み刺戟による条件待避行動と本質的に同じものだということを説明した。

筆をおくに当り、今泉恭二郎教授の御校閲を感謝します。又本実験の一部には、九州大学医学部精神神経医学教室(主任、桜井図南男教授)大学院学生、牧武医学士の協力を得たことを附記します。

## 文 献

- 1) Andersson, B. and S. Larsson (1956) An attempt to condition hypothalamic polydipsia. *Acta physiol. Scand.* **36**, 377
- 2) Andersson, B. and W. Wyrwicka (1957) The elicitation of a drinking motor conditioned reaction by electrical stimulation of the hypothalamic drinking area in the goat. *Acta physiol. Scand.* **41**, 194
- 3) Ban, T. and H. Shinoda (1956) Experimental studies on the relation between the hypothalamus and conditioned reflex. *Med. J. Osaka Univ.* **7**, 643
- 4) 伴 忠康・篠田博之・湯浅亮一・女川昭雄 (1958) 視床下部刺激を無条件刺激とする条件反射について *日本臨牀* **16**, 869
- 5) Bower, G. H. and N. E. Miller (1958) Rewarding and punishing effects from stimulating the same place in the rat's brain. *J. comp. physiol. Psychol.* **51**, 669
- 6) Masserman, J. H. (1941) Is the hypothalamus a center of emotion? *Psychosom. Med.* **3**, 31
- 7) Nakao, H. (1958) Emotional behavior produced by hypothalamic stimulation. *Am. J. Physiol.* **194**, 411
- 8) 中尾弘之 (1958) 猫視床下部刺激による一学習行動について *精神経誌* **60**, 1396
- 9) Olds, J. (1955) Physiological mechanisms of reward in M. R. Jones (Ed.), *Nebraska Symposium on Motivation*. Lincoln Univ. of Nebraska Press.
- 10) Olds, J. and P. Milner (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J. comp. physiol. Psychol.* **47**, 419
- 11) Penfield, W. (1958) The roll of the temporal cortex in recall of past experience and interpretation of the present in G. E. W. Wolstenholme and C. M. O'conner (Ed.), *Neurological Basis of Behavior*. J. & A. Churchill Ltd, London.
- 12) Roberts, W. W. (1958) Rapid escape learning without avoidance learning motivated by hypothalamic stimulation in cats. *J. comp. physiol. Psychol.* **51**, 391
- 13) Roberts, W. W. (1958) Both rewarding and punishing effects from stimulation of posterior hypothalamus of cat with same electrode at same intensity. *J. comp. physiol. Psychol.* **51**, 400

## Summary

Experiments were attempted to condition a learning behavior, using electrical stimulation of the anterior hypothalamus of the cat, with its learned paddle-pushing behavior to turn off the hypothalamic stimulation, as the unconditioned stimulus. The conditioned stimulus was a buzzer and preceded the hypothalamic stimulation by 5 seconds. The attempts to develop a conditioned learning behavior proved successful on three out of six animals and, extinction, inhibition, spontaneous recovery and generalization were observed on the process. The mechanism of conditioned responses was discussed in relation to behavioral series of external stimulation, perception, interpretation, motivation, direction, and action.

(*Department of Neuropsychology, School of Medicine, Tokushima University*)

## 猫脳幹網様体の単位放電に関する研究 612.827/8

### I. 条件付け工作による単位放電の変化

Studies on the Unit Discharge of Brainstem Reticular Formation in the Cat.

I. Changes of Reticular Unit Discharge following Conditioning Procedure.

(本論文の要旨は第15回日本医学総会と第20回近畿生理学談話会で発表した.)

小 倉 博 人 (OGURA-Hiroto)\*

#### I. 緒 言

条件反射についてのPavlovの概念はMarseille (1955), London (1957), Bruxelles (1957) 及び Moscow (1958) で開かれた4つの国際シンポジウムにおいて、脳的に批判されている。条件反射の古典的研究は主として大脳の支配下にある体性又は臓性活動を対象としてきたが、条件反射の形成メカニズムを理解するために、直接的に大脳変化を観察すべく、脳波が用いられたことは当然の帰結である。しかし、表面脳波からニューロンの態度を推察する事が困難なことは、Jasperらの皮質表面脳波とその単位放電との関連をしらべた報告<sup>1,2)</sup> からも了解される。それ故に条件反射のメカニズムを理解するためには、中枢神経系の各部におけるニューロンが条件付け工作によって如何なる態度を示すかという点を究明せねばならないであろう。

脳幹網様体が陽性及び陰性条件反射の形成に関与することは早く吉井教授<sup>3)</sup> によって主張され、その後これに関する多くの追試を得て一般に認めるところとなっている<sup>4,5,6)</sup>。脳幹網様体ニューロンは除脳猫、*encéphale isolé* 猫或いはクラレで不動化した無麻酔猫では自発活動的であって、ここに微小電極を挿入することにより単位放電の発火又は不規則なスパイク放電群が記録出来ることが報告されている<sup>7,8)</sup>。このニューロンの多くは種々の知覚刺激、大脳(皮質運動領)又は小脳(前葉)の刺激によって容易に影響を受けることも知られている<sup>9,10)</sup>。

ここにおいて著者は脳幹網様体の中、主として橋網様体のニューロンが条件付け工作によって如何なる態度を示すかを知らうとして、この単位放電を対象として、先ず音、光及び肢電撃の3種の知覚刺激に対する反応を検べた。次いでこれらの中の2刺激を夫々条件及び無条件刺激として組合せて条件付け工作を行ない、その過程におけるこれらニューロンの放電様相を観察した。

#### II. 実験方法

動物は猫(体重約2-3.5kg)を使用して急性実験を行なった。

エーテル麻酔の下で動物を猫固定器に固定し、頭蓋後頭部を切開し、露出された小脳の表面を硝酸銀結晶で腐蝕しながら吸引操作によって小脳の大部分を剔除し、脳橋及び延髄を直視出来るようにした。この露出された部分の保温と乾燥を防ぐために37-39°Cに温めた流動パラフィンのプールを作った。次に、体重1kg当り1-2mgのアメリゾール(吉富)(d-tubocurarine)を動物の腹腔内に注射して自発的運動を抑え、同時に閉鎖式(酸素混入)或いは開放式人工呼吸装置(毎分34回、1回の呼吸量は30-50ml)を働かせた。大部分の実験はこのようなクラレによる不動化のみの無麻酔状態で行なったが、必要あれば、第1頸椎の高さで脊髄硬膜を切開して髄液を流出し、呼吸による脳実質の動揺を少なくした。

使用した記録電極はすべて金メッキを施したタングステン線(直径10 $\mu$ )で、これをガラス毛細管内に封入固定した。その先端はガラス壁

\* 大阪大学医学部第2生理学教室(吉井直三郎教授)  
〔昭和34年8月21日受付〕

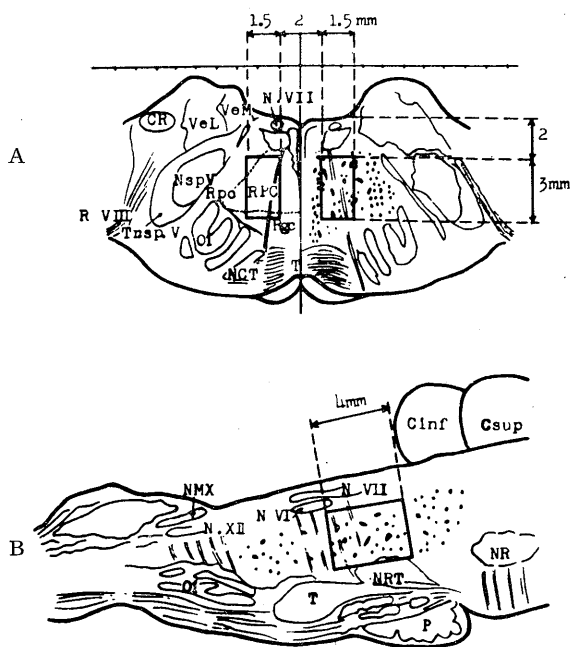
の厚さも含めて外径約 12-14 $\mu$  であった。不  
関電極を前頭正中線上に置き、単極誘導法に  
より記録した。この微小電極によって得られ  
た電氣的現象は CR 増巾器を通して Braun  
管オツシロスコープ (日本光電製, VC-5 型) A  
に接続し、これを連続記録装置 (三栄測器  
製, 1,101 A型) によりオツシロペーパー上に  
撮影した。

猫固定器の枠にマイクロマニプレーターを  
取付け、これに装着された微小電極を動物の  
後上方から前下方に向い、規準水平面に対し  
45-60°の傾斜で露出された脳橋の表面から橋  
網様体に挿入した。このマイクロマニプレー  
ターはその挿入方向に1目盛10 $\mu$ の動きを操  
作することが出来る。実験はすべて暗い、静  
かなシールドルームの中で行なった。

刺激には音、光及び肢電撃を用いた。音刺  
激はブザー (又はベル)、光刺激は動物の正面  
前方約 50cm の距離に置かれたフリッカーに  
より毎秒 6-7 回の短い間歇閃光を用いたが、  
少数例では毎秒 25 回の間歇閃光も使用した。  
閃光には若干のクリック音を伴うが、これを  
防音するように装置した。肢電撃には動物の  
後肢 (主に左側) の皮下に刺入した 2 本の針  
電極に電子管刺激装置 (日本光電製, MSE-2  
型) を接続し、10-15volts, 持続時間 1msec,  
矩形波単発の電気刺激を与えた。原則として  
中性刺激 (主として音刺激) を条件刺激 (CS)  
として 4 秒間与え、反応する刺激、主に肢電  
撃 (単発) 又は間歇閃光 (1 秒間持続) を無  
条件刺激 (UCS) とし、CS が始ってから 3  
秒後に UCS を与えた。条件刺激の間隔は 15 秒  
で、CS と UCS の組合せによる条件付け工作  
を数十回、或いはそれ以上反復実施した。単位  
放電の記録は 10 回強化中に 1-2 回 at random  
にとった。

橋網様体に微小電極を挿入して得られる単位  
放電の中で、観察の対象としたのは大体振巾が  
100 $\mu$ V 以上の単位放電で、100 $\mu$ V 未満の小振  
巾のものについては省略した。

組織学的検索: 実験終了後、微小電極の挿入



Cinf: Colliculus inferior. CR: Corpus restiforme. Csup: Colliculus superior. NCT: Nucleus of corpus trapezoideum. NMX: Dorsal nucleus of n. X. NR: Nucleus ruber. NRT: Nucleus reticularis tegmenti pontis. NspV: Spinal nucleus of n. V. N. VI, VII and XII: Motor nuclei of n. VI, VII and XII. Ol: Olive. P: Pontine nuclei. Rgc: Nucleus reticularis gigantocellularis. Rpc: Nucleus reticularis parvicellularis. Rpo: Nucleus reticularis ponticaudalis. R. VI and VIII: Root fibres of n. VI and VIII. T: Corpus trapezoideum. Tr. sp. V: Spinal tract of n. V. VeL: Nucleus vestibularis lateralis. VeM: Nucleus vestibularis medialis.

Fig. 1.

Inserted part of microelectrode in the pontine reticular formation. A: Frontal section in P7 (by Jasper & Aijmon-Marsann). B: Parasagittal section.

された部位を確認するために、脳のこの部分を  
とり出して 10%ホルマリン液に浸し、型の如く  
組織切片標本を作って顕微鏡下にこれを調べ、  
微小電極の刺入点を Brodal<sup>11)</sup> の模式図に記入  
した (Fig. 1)。

### III. 実験成績

#### A. 網様体の自発性単位放電

##### 1. スパイクの形と持続時間との関係

橋網様体に微小電極を挿入する事によって、  
毎秒 1-30 又はそれ以上の頻度で自発的に発火し

ている単位放電を記録することが出来る。この単位放電のスパイクの形は次の3型に大別される。

- i) 初期陰性二相型
- ii) 初期陽性二相型
- iii) 三相型 (陽性-陰性-陽性)

これらのスパイクの持続時間は大体 0.8-2.0 msec の範囲内にあったが、これとスパイクの形との関係は Tab. 1 に示す如くである。この表から明らかな通り、観察された電位の大部分は初期陰性二相型スパイクであってその中でも殊に持続時間が 1.0-1.5msec のものが大半を占め、1.0msec 以下又は 1.5msec 以上の持続時間を有するものは僅かに観察されたにすぎない。

Table 1.

Relationship between the spike form and the duration of spontaneous unit discharge.

Spike Form Duration (msec)	Diphasic		Triphasic	Total
	initial negative	initial positive		
D < 1	12 (6%)	2 (1%)	6 (3%)	20 (10%)
1 ≤ D ≤ 1.5	120 (62%)	9 (5%)	10 (5%)	139 (72%)
1.5 < D	20 (10%)	5 (3%)	10 (5%)	35 (18%)
Total	142 (78%)	16 (9%)	26 (13%)	194 (100%)

Table 2.

Relationship between the response to three types of stimulation and the regularity of spontaneous unit discharge.

Response to stimulation of spont. discharge	not influenced B <sub>0</sub>	influenced by one type of stim. B <sub>1</sub>			influenced by two types of stim. B <sub>2</sub>			influenced by three types of stim. B <sub>3</sub>	Total
		tone	light	ES	tone & light	light & ES	tone & ES		
Regular discharge A <sub>1</sub>	47	2	6	24	4	13	3	3	102 (49%)
Irregular discharge A <sub>2</sub>	31	3	7	18	11	20	6	9	105 (51%)
Total	78 (38%)	60 (29%)			57 (27%)			12 (6%)	207

初期陽性二相型スパイクについても大体同様の関係が得られたが、これは傷害電位として出現することが多いらしく、脳或いは電極の僅かの動揺によって容易に消失した。三相型(陽性-陰性-陽性)スパイクも時として見られたが、これには持続時間が 1msec 以上のものが大部分で、且つその殆んどすべての場合、陰性成分は約 0.5msec の持続時間を有していた。

2. 自発性単位放電のリズムと知覚刺激に対する反応

かなりの時間に亘って定常的に発火している単位放電に就いて、その発火のリズムは次の2型に分けられる。即ち、割合に規則的に発火しているもの(規則型, A<sub>1</sub>)と群化の傾向を示しながら不規則に発火するもの(不規則型, A<sub>2</sub>)である。ここに記録された 207 単位の放電について、両者の割合は大体相半ばであった(Tab. 2)。即ち網様体においては、規則的放電のものも不規則放電のものも大体同程度の頻度で観察された。

次に之等の単位放電について、CS或はUCSとして用うべき音刺激(ブザー又はベル)、光刺激(毎秒6-7回、或いは25回の間歇閃光)及び肢電撃の3種の知覚刺激に対する反応をしらべて、Tab. 3 に示す如き成績を得た。

これら3種の刺激の何れにも反応しないもの

(B<sub>0</sub>) 38%, 何れか

1刺激のみに促進的(放電数の増加),

或いは制止的(放電数の減少)の反応をしめしたもの

(B<sub>1</sub>) 29%, これら

の中の何れか2刺激に反応したもの

(B<sub>2</sub>) 27%, 及び3

刺激のすべてに反応したもの(B<sub>3</sub>)

6%あった。B<sub>1</sub>を

1価=ニューロン,

B<sub>2</sub> 及び B<sub>3</sub> を多

価ニューロンとすれば、無反応、1価及び多価の各ニューロンの比は夫々 38:29:33 となる。換言すれば、これらの単位放電の 1/3 以上がここに用いた 3 刺激については少なくとも無反応であり、その他のものが 1 種又はそれ以上の知覚刺激に対して反応を示すのである。

自発性単位放電のリズムとこれら 3 刺激に対する反応との関係について見ると、無反応のニューロン及び 1 価ニューロンは規則的放電型に多く、多価ニューロンは不規則放電型に多く見られた。また 3 刺激の中では、肢電撃によって促進的或いは制止的の反応を示したものは他の 2 種の刺激によるものに比して非常に多かった。

**B. 条件付け工作の過程における単位放電の態度**

条件付けを始める前の安静な状態では、橋網様体から自発的に発火している単位放電を記録することが出来る。これについて、CS 又は UCS として用うべき音、光及び肢電撃の 3 刺激に対する反応は前述のごとくであるが、これらの中

で、主として音刺激によって促進的或いは制止的効果が認められた場合には、その音刺激のみを少なくとも 20 回以上反復して与えて慣れ工作を行なった。その結果大部分のものは慣れによる効果が殆んど認められなかった (Fig. 7) が、或るものでは促進的又は制止的影響が次第に減弱し、遂には反応が殆んど認められなくなったものもある。しかし、後者は慣れ工作の結果によるものか、或いは慣れ工作を行なわなくても損傷その他の理由で発火を停止したのかは明らかでない。

橋網様体から記録された単位放電の中で、73 単位について条件付け工作を行なった。原則として CS には音刺激 (主にブザー) を使用し、UCS には肢電撃又は光刺激を用いた。そしてこの CS, UCS の組合せによる条件付け工作を数十回、或いはそれ以上繰返し行なって、その過程における単位放電の態度を観察した。尙この実験では放電数の時間的経過をなるべく詳しく観察するために、0.5 秒毎の単位放電の頻度を

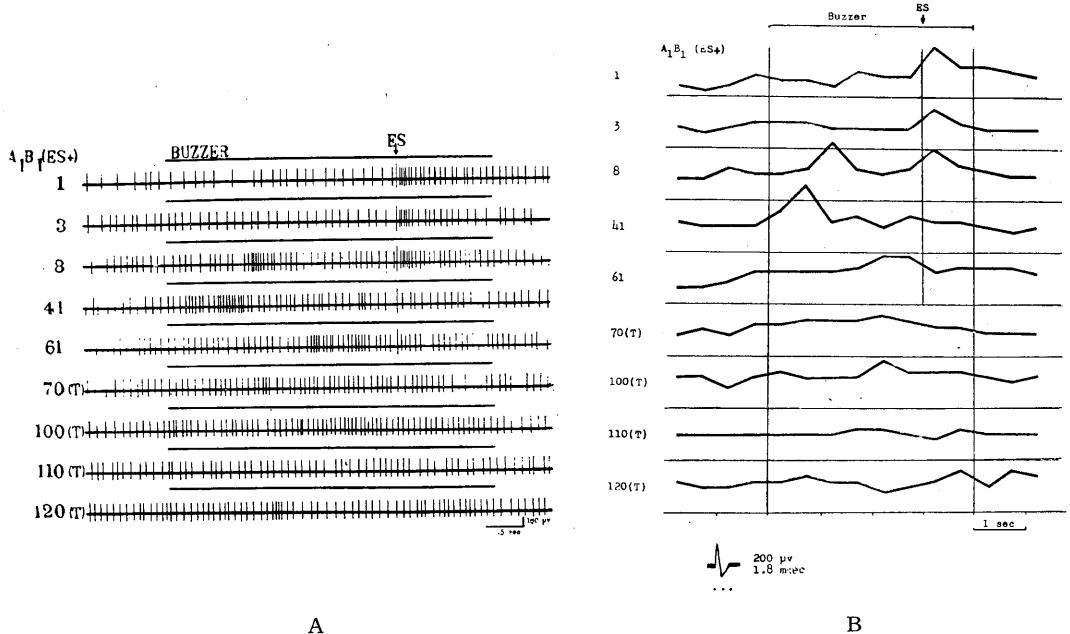


Fig. 2.

Spontaneous regular discharge, influenced by ES facilitatorily. Positively conditioned, response with buzzer (CS) and ES (UCS). The facilitatory effect by CS was observed in Trial 8, 41 and 61, but disappeared thereafter. Time marks 0.5 sec.; vertical bar, 100 $\mu$ V. (in A). B represents the graph of the result in A, Ordinate: number of spike discharges (per 0.5 sec); abscissa: time in sec.

計測した。記載の簡略を期するために数例の実験例を挙げるにとどめる。

### 1. 陽性条件反応

第1例. この単位放電は放電間隔に多少の変動はあるがリズムはかなり規則的であって、音、光及び肢電撃 (ES) の3種の知覚刺激に対しては ES のみに促進的影響が認められたので、前述の分類によれば  $A_1 B_1$  型に属する単位である。この単位についてブザー (CS) と ES (UCS) との組合せによる条件付け工作を行なった (Fig. 2A)。

第1回試行では、自発的に発火しているかなり規則的な単位放電は CS の始まった後でも放電頻度に殆んど変化は見られないが、UCSの与えられた直後に著明な促進的效果が現われ、これが約1秒間続いてから次第に元の状態に戻った。第3回試行でもその様子は第1回と殆んど同じであった。第8回試行では、CS 開始後約1秒のところに促進的效果が見られた。条件付けの回数を重ねていくとこの強化効果は更に明瞭になり、第41回試行では CS 開始後1秒以内に促進的效果が出現した。しかしこれとは反対に、ES の効果はこの頃よりかなり減退した。

第61回試行においても、CS 開始後約2秒 (UCS の約1秒前) のところに促進的效果が見られたが、ES の効果は第41回と同様に殆んど消失していた。

更に条件付けを反復するとき、これまでに認められていたところの条件付けによる陽性効果は次第に減退し、遂には全く消失した。即ち、70回、100回、110回及び120回のテスト (UCS は与えられない) では、CS 開始後に現われるべき、強化による促進効果は次第に減弱し、遂には殆んど認められなくなった。従ってこの単位の条件付け工作では、初めの数十回の試行までは陽性反応が著明に現われたが、同時に UCS としての ES に対する反応が減退したので、それ以上に条件付けを反復すると、それまでに現われていた陽性反応が次第に減弱して遂には全く無反応となってしまった。Fig. 2 B は Fig. 2 A の成績を、縦軸に単位時間 (0.5秒) 毎の放電数を表わし、横軸に経過時間を表わしたグラフである (以下同様)。

第2例. この例も所謂  $A_1 B_1$  型に属する単位で、自発性放電はかなり規則的で、ES のみに促進的影響を示した。この単位についてブザー

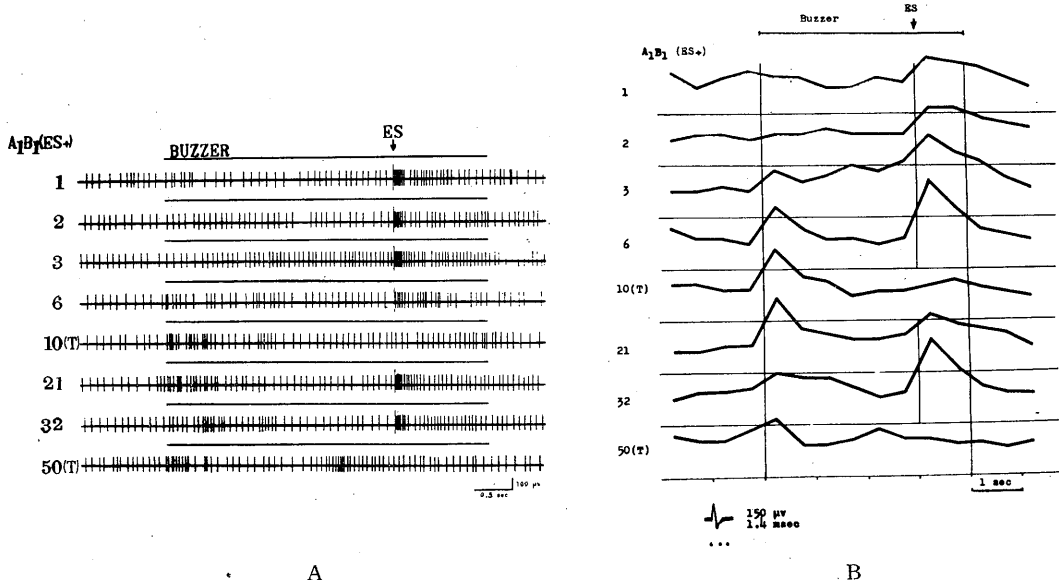


Fig. 3.

Spontaneous regular discharge, influenced by ES facilitatorily. Positively conditioned response with buzzer (CS) and ES (UCS). The facilitatory effect by CS was observed in Test 10, Trial 21, 32 and Test 50,

(CS) と ES (UCS) との組合せによる条件付け工作を行なった (Fig. 3). この単位も第1回及び第2回試行では, CS 開始後には放電数の変化

は殆んど見られなかったが, UCS直後に著明な放電数の増加が現われ, その後次第に元の状態に回復した. 第3回試行では, CS により軽度

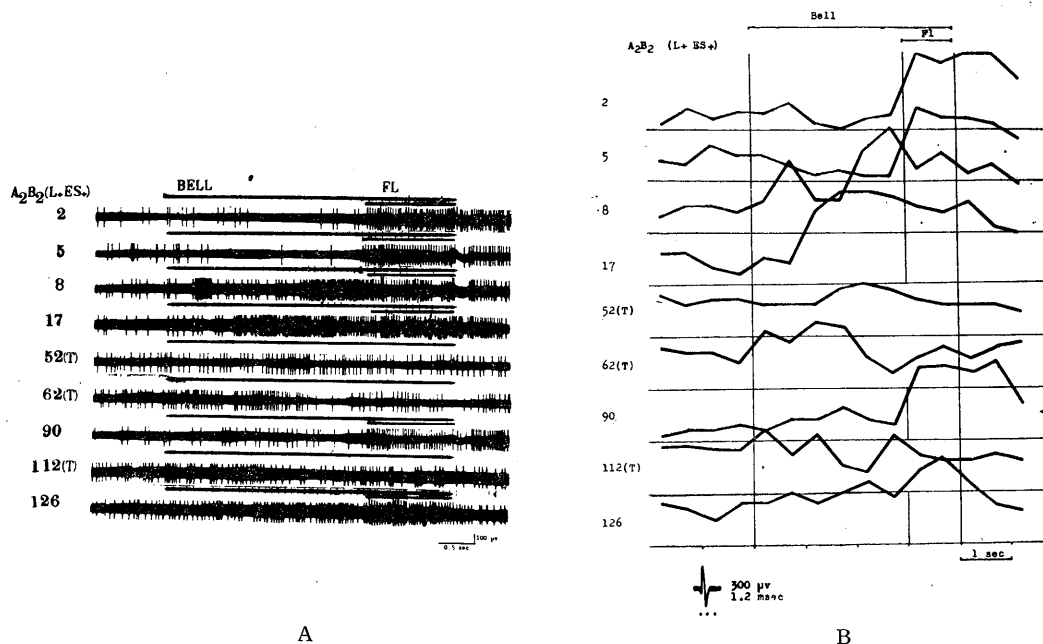


Fig. 4.

Spontaneous irregular discharge, influenced by flash light (25c/s) and ES. Positively conditioned response with bell (CS) and flash light (UCS). The facilitatory effect by CS was observed in Trial 8, 17, 62 (Test) and 112 (Test).

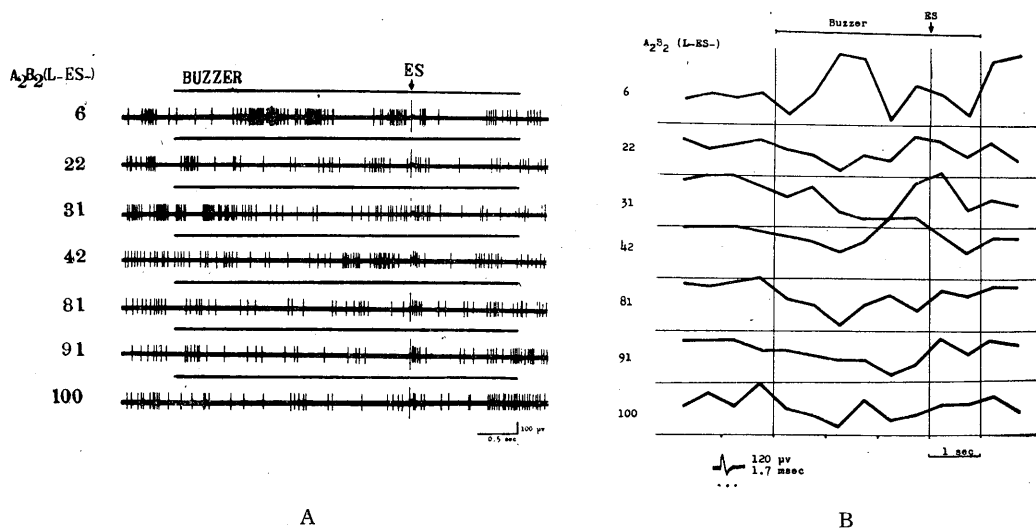


Fig. 5.

Spontaneous irregular discharge, influenced by flash light and ES inhibitorily. Negatively conditioned response with buzzer (CS) and ES (UCS). The inhibitory effect by CS was observed in Tiral 31, 81 and 91,

ではあるが全般的な放電数の促進が見られた。第10回のテストでは、CS 直後にかなり明瞭な促進的効果が認められた。条件付け仕事を繰返し行なえば、この陽性反応は更に明瞭に見られるようになった。第50回テストでは CS 開始直後とその約2秒後 (UCS の与えられるべき時間の約1秒前) に促進的効果が認められた。

第3例. 自発性放電は不規則で、2種の知覚刺激即ち間歇閃光 (毎秒25回) と ES とによって促進的影響の見られる所謂  $A_2 B_2$  型の単位放電である。この単位について、ベル (CS) と間歇閃光 (UCS) との組合せによる条件付け工作を行なった (Fig. 4). 条件付けの初期 (第2回及び第5回試行) では、CS による促進的影響は殆んど見られず、かえって放電の一時的中断などがあったが、UCS によって著明な放電数の増加が現われ、刺激の終わった後でも尙暫らく後放電が認められた。条件付け仕事を反復するとき、CS 開始直後或いは UCS 直前に、或いはまたこれまで放電の一時的中断があったところに著明な促進的効果が見られるようになった (第8回及び第17回試行)。第62回及び第112回のテストでは、CS の始まる前に既に軽度ではあ

るが促進的効果が見られ、CS 開始後にも明らかな放電数の増加が認められた。要するに、この単位では 100 回以上の音と光の組合せによる条件付け工作によって、CS による陽性反応が得られた。

## 2. 陰性条件反応

第4例. 自発性単位放電のリズムは不規則で群化の傾向を示し、且つ2種の知覚刺激 (間歇閃光及び ES) によって制止的影響を示したところの所謂  $A_2 B_2$  型単位放電について、ブザー (CS) と ES (UCS) との組合せによる条件付け工作を行なった (Fig. 5).

条件付けを行なう前から自発性放電が不規則であるから、CS 開始後もその影響とは無関係に群化或いは発火の一時的減少が見られ、UCS の与えられた直後は若干の放電が出現した後、約0.5秒間に亙る明らかな制止的効果が現われ、CS の終了と共に次第に元の状態に回復した。このような単位について条件付け工作を反復すると、UCS による制止的効果が CS によって現われる様になった。即ち第22回試行では CS 開始後約1秒のところに制止的効果が認められたが、更に第31回試行 (CS 開始後約2秒)、第81

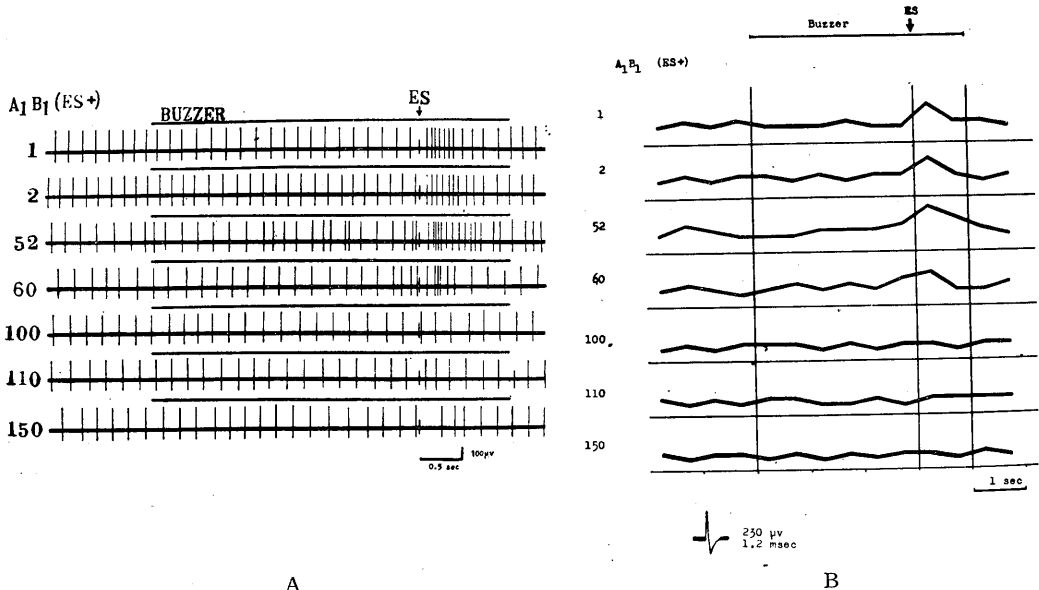


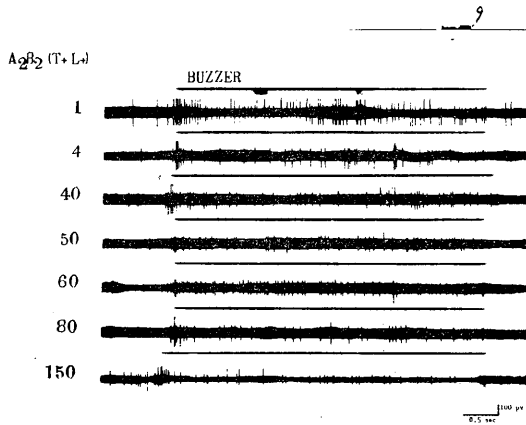
Fig. 6.

Spontaneous regular discharge, influenced by ES. No response was observed in spite of conditioning with buzzer (CS) and ES (UCS).

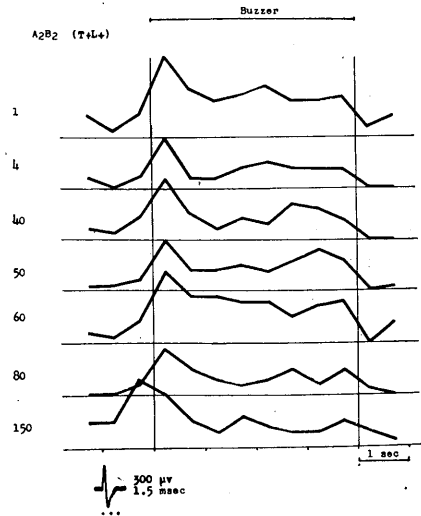
回試行 (CS 開始後約 1.5 秒) および第91回試行 (UCS 直前) に制止的效果が認められた。尙この場合でも、UCSによる制止的影響は条件付けの

回数を重ねるに従って次第に不明瞭になる傾向が見られた。

3. 無効果



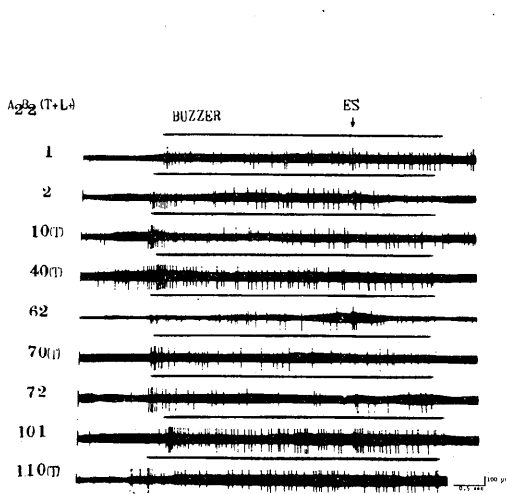
A



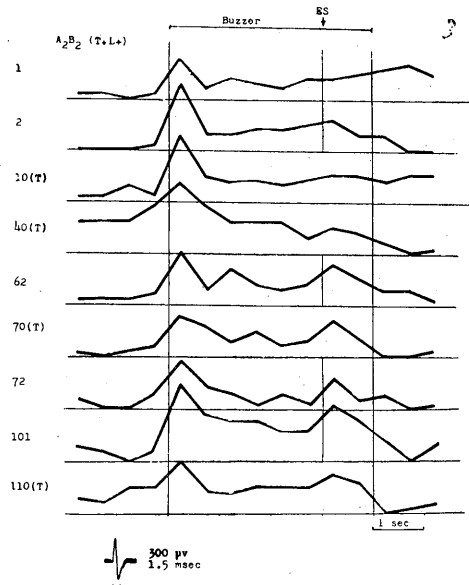
B

Fig. 7.

Spontaneous irregular discharge, influenced by buzzer and flash light. The effect of habituation with buzzer was not observed even after 150 times.



A



B

Fig. 8.

Backward conditioning with buzzer (facilitatory effect) and ES (no effect). The facilitatory effect by ES was observed in Trial 101.

第5例. この自発性単位放電のリズムはかなり規則的で、且つ ES のみにより僅かに促進的影響を示した所謂  $A_1 B_1$  型単位について、ブザー (CS) と ES (UCS) との組合せによる条件付けを行なった (Fig. 6). 条件付けの回数を重ねることにより、自発性放電の発火頻度に軽度の変動はあったが、CS 開始後に促進的効果は全く見られず (第52回及び第60回試行)、また条件付けの初期に現われていた UCS の促進的影響も条件付けの反復によって次第に消失した (第100回、第110回及び第150回試行).

4. 後方条件付け (感作)

第6例. 自発性単位放電は不規則で、音 (ブザー) と光 (6-7c/s 間歇閃光) には促進的影響を示すが、ES による影響は見られなかったと

ころの所謂  $A_2 B_2$  型単位放電である. この場合はブザーによってはじめに促進的影響が認められているから、ブザーのみを与えて慣れ工作を行なった. しかし約 150 回の慣れ工作にもかかわらず、その促進的影響が減退し、或いは消失する傾向は殆んど見られなかった (Fig. 7). 次にブザー (CS) と ES (UCS) との組合せによる後方条件付けを行なった (Fig. 8). CS によって促進的影響の現われるのは当然であるが、条件付けの初期では影響の見られなかった ES が条件付けを反復することによって促進的影響を示すようになった (第101回試行). CS (ブザー) に対する促進的効果は殆んど変化しなかった. このような例は条件反射においては「後方条件付け」と呼んでいるが、むしろ「感作」という方が正しいかも知れない.

以上述べた様な成績を、条件付け工作を行なった73単位について各型別にまとめると Tab. 3 の如くである. この表では条件付け工作によって陽性効果が得られた場合を+, 同じく陰性効果の得られた場合を-, 条件付けによる効果の認められなかった場合を 0, 及び陽性又は陰性効果の不確実なものを±として表わした. この表から、条件付け工作によってその効果が認められなかったもの、及びその効果の不確実なものは全体の過半数にも及んでいる. また陽性或いは陰性効果が条件付けられた単位は夫々37%及び9%であった. 前者は知覚刺激に全く無反応 ( $B_0$ ), 或いは1刺激のみに反応する単位放電 ( $B_1$ ) に多く、後者は2種以上の知覚衝撃が集中する単位放電 ( $B_2$  又は  $B_3$ ) に多く見られたことは注目すべきである.

Table 3.

Relationship between conditioned response (CR) and type of the unit discharge in the pontine reticular formation. + : positively conditioned ; - : negatively conditioned ; 0 : no response ; ± : no clear response.

Type of Unit Discharge	CR			+	-	0	±	Total
	T	L	ES					
$A_1 B_0$	0	0	0	1		8		19 (26%)
$A_2 B_0$	0	0	0			6	4	
$A_1 B_1$	0	-	0			1		17
	0	0	+	2		6		
	0	0	-		1	7		
$A_2 B_1$	0	0	+	10		1		13
	0	0	-		1	1		
$A_1 B_2$	0	+	+	1				3
	-	0	+	1		1		
$A_2 B_2$	0	+	+	6	2		1	15
	0	-	+	1				
	0	-	-				1	
	+	0	+	2			1	
	-	0	-			1		
$A_1 B_3$	+	+	+			1		2
	+	-	+	1				
$A_2 B_3$	+	+	+	2				4 (9%)
	+	-	-		1			
	-	-	-		1			
Total				27 (37%)	6 (9%)	33 (45%)	7 (9%)	73

IV. 考 察

A. 自発性単位放電について

橋網様体から得られる自発性単位放電のスパイクの形は、上述の如く、初期陰性二相型、初期陽性二相型及び三相型の3型に区別される. この中でも特に持続時間が1-1.5msecの初期陰性二相型スパイクが多数認められた. Brock et al.<sup>12)</sup>, Frank and Fourtes<sup>13)</sup> 及び Cohen and

Wang<sup>14)</sup>によれば、脊髄の運動ニューロンにおける細胞内電位の記録では、1-1.5msecの持続時間を有する電位は細胞体から得られたものであり、軸索から得られる電位の持続時間は約0.5msecであると云われている。しかしながら、著者が特に多く観察したところの、網様体における初期陰性二相型スパイクは、その使用した電極の大きさから考えて細胞内から誘導したSoma potentialであるとは考えられない。次に初期陽性二相型スパイクは微小電極が細胞体に非常に接近した時に得られたものと想像することが出来る。その理由は、このような電位が得られたところのニューロンは微小電極の接近によって屢々破壊され、その電位が消失するからである。更に、三相型スパイクに限らず、一般に持続時間が約0.5msecの陰性成分の中には、脊髄における軸索電位の持続時間と等しい点を考えると、軸索の衝撃電位を含むかも知れないと想像される。

次に、これらの自発性単位放電のリズムには規則型と不規則型の2型があるが、ここに観察した207単位について、この両者の割合は大体同じであった。しかし音、光及び肢電撃の3種の知覚刺激に対する反応は各单位によってかなりの変動が見られた。この3刺激に全く無反応のもの、何れか1種の刺激のみに反応したもの(1価ニューロン)及び異った2種以上の刺激に反応したもの(多価ニューロン)について、その比は夫々38:29:33であった(Tab. 2)。Palestini et al.<sup>9)</sup>によれば、上行性ニューロンが優位を占めていると考えられるN. VIの準位(P6)における橋網様体の単位について、無反応、1価ニューロンおよび多価ニューロンの比は夫々43:13.5:43.5であり、また同一準位における正中部と外側部とを比較すれば、無反応のものは大体同じであるが、1価ニューロンは外側部に多く、多価ニューロンは正中部に多いという。著者の記録した207単位は大体P5-P8の準位において得られた単位の総計で、且つ電極挿入範囲はPalestini et al.のいう外側部と正中部との両方にまたがっているから、著者の得た

成績で1価ニューロンの割合が少し多い点を考慮に入れても、彼等の示した比率と大体一致していると云えるであろう。

更にこれらの刺激に対する反応の中で、音、或いは光刺激に影響された単位は、肢電撃によって影響を受けた単位に比べてはるかに少なかった。このような差異は、聴覚系或いは視覚系からの伝導路が橋網様体の如き尾側位の網様体に介入することが少なく、より頭側の中脳網様体に介入することが多いと想像する事が出来る。この想像を支持するデータとして、中脳網様体においては聴覚刺激に対して反応する単位放電が容易に認められるが<sup>15)</sup>、橋及び延髄においては全くないか、或いは極く僅かしか認められないという報告がある<sup>16)</sup>。末梢からの求心性インパルスを伝えるところの脊髄網様線維の終末が橋又は延髄の網様体はかなり多数に存在するために、後肢の電撃によって影響される単位がこの部分に多く見られるのであろう。

#### B. 条件付け工作の過程に於ける単位放電

脳幹網様体は条件反射の形成に特に重要な役割を演ずると考えられている<sup>3)</sup>。中脳、橋及び間脳網様体では、多数の星状ニューロンが相互結合によって存在する。このような構造は大脳皮質にも存在しており、皮質の各層において短かい軸索を有する細胞が互に結合し、或いは錐体ニューロンと結合している。この皮質構造に超微小電極を応用して、微小サイバネチックスの見地から条件反射について初めて検討したのがJasper, Ricci and Doane<sup>12)</sup>である。彼等は覚醒せる猿で防禦条件付けを行なって、その際の皮質各領野のニューロンから得られる錐体細胞性放電と、同時に記録した皮質表面脳波との関係について述べている。彼等によれば、この両者の間には一致した相関々係は得られなかった。皮質表面脳波はシナプス、またはデンドライト電位を大きく集計したものであり、各ニューロンの単位放電の集ったものではない。更に皮質表面脳波は多数の要素の同期性活動によるものであるが、微小電極による単位放電の記録は同時に1種又は精々2, 3種の単位放電し

か得られないから、この両者の間には本質的差異が存在するのは当然であろう。

この差異は大脳皮質のみならず、脳幹網様体においても同様であると思われる。殊に、網様体の各ニューロンにおける単位放電と皮質表面脳波、或いは橋又は延髄の表面からの記録との間には明瞭なる相関関係は認め難いであろう。それ故著者は、条件付け工作の過程における網様体の役割を単位放電から追究するために、先ず脳幹網様体の中、主として橋網様体ニューロンを対象として検討した。

音刺激、光刺激及び肢電撃の3刺激の中の2つをCS、UCSとして組合せて、73単位について条件付け工作を試みたが、その半数以上の単位は条件付け工作による効果が全く見られなかったか、或いはその効果の不確実なものであった。しかしその残りの中、27単位(37%)に陽性条件反応が認められ、6単位(9%)に陰性条件反応が認められた(Tab.3)。これら3刺激のすべてに対して無反応の自発性単位放電(A<sub>1</sub>B<sub>0</sub>及びA<sub>2</sub>B<sub>0</sub>)については、条件付け工作による効果が殆んど見られなかったのは当然予測される所であるが、何れか1種の刺激のみに影響を受ける所謂1価ニューロン、就中、規則的発火を示す単位(A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>)で、条件反応の形成が見られたのは僅かしかなかった(17単位中、3単位)。これに反し、不規則に発火する単位(A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>)ではかなりの程度に陽性又は陰性条件反応の形成されるのが認められた(13単位中、11単位)。また2種以上の刺激に反応した多価ニューロンについては、大多数のものは条件付け工作による陽性又は陰性効果が見られて、無効果、或いは効果の不確実なものは僅かしかなかった。

網様体ニューロンはそれが影響される所々の刺激の種類によって、その機能を異にすると考えてよいであろう。そして多種の求心性衝撃に反応する多価ニューロンがこの部に比較的多く存在するという事実は、網様体が広汎性覚醒作用を発動するのに必要なことである。網様体賦活系はあらゆる型の求心性衝撃によって瀰漫

性に賦活されるのではなく、それらのインパルスの影響が集中する領野であろうと推察されている<sup>8)</sup>。従って条件反応の形成の場合でも、2種以上の刺激が集中する多価ニューロンに、殊に不規則な発火を示す自発性放電に多く認められたという事実は、これらの求心性インパルスの影響がそのニューロンに於いて集中し、且つ常時活潑に活動しているニューロンが条件付けに最初に働くのでであろうと推察される。

条件反射の公理からすれば、促進的効果を有するUCSと組合せた時は不関刺激であったCSは促進的効果を獲得し、若しUCSが制止的効果を有するならばCSは制止的効果を獲得するのが一般である。しかし、網様体ニューロンの放電を対象として条件付け工作を行なった場合は、一般的にはそうであるが、必ずしもそうでない場合もある事を本実験で明らかにした。この事は、網様体ニューロンの結合回路の中には例えばGolgi II型細胞の如きが介在して放電を制止することも推察出来るのであって、結合型式によっては賦活作用と「冷却」効果の両者をもたらすニューロンがあるのでであろうと想像することが出来る。それ故2刺激の組合せ工作によって容易に発火態度を変え得る疏通、或いは制止回路が網様体において発達していることを明らかにし得たことは、条件結合の本態を理解するために必要な実験的根拠を得たと云い得るであろう。網様体ニューロンが簡単な直線的連鎖ではなく、複雑な回帰回路をもって結合しているだろうとの著者の想像は、次の実験からも支持される。著者は薬剤の網様体単位放電に及ぼす影響をしらべる実験で<sup>17)</sup>、通常脳波及び行動に対する影響から当然に促進的効果が得られると期待される薬剤、例えば覚醒アミンやカテコールの投与によって、或る単位では著明な促進的効果が見られ、また他の単位ではこれと反対の制止的効果が現われることをみとめた。従って2刺激の組合せによる条件付け工作の場合でも、促進的効果を有するUCSと不関刺激のCSとの組合せによって条件付けを行なって、その結果が予測とは反対の制止的効果(陰性反

応)であったとしても、驚くに足りないであろう。

条件付け工作においては、それが如何なる種類の条件付けであっても、脳幹網様体が関連していることは吉井<sup>3)</sup>及びその門下の努力により示され、また多方面からの追試により、もはや疑う余地はない。しかしながら、網様体の各ニューロンが条件付け工作の過程で如何なる態度を示すかは、ニューロン連鎖の結合様式、或いは側鎖回路、回帰回路の有無によってかなりの変動がある。

以上の成績は、2刺激の組合せによる条件付け工作によって或る種の網様体ニューロンが放電態度を変化し得ること、そのような態度を変えるニューロンは自発的に不規則に放電しているものに多く、且つ多価ニューロンに多いことを証明した。しかし著者はこの実験によって、網様体において条件結合が作られることを主張しようとするのではない。条件付け工作に於いて、網様体には速かに態度を変えるニューロンが約46%に存在することを証明し得たと主張するのである。しかし、次の如く想像することは許されるであろう。このように2刺激の組合せ工作により放電態度を変えるニューロンの或るものは、強化工作を続けることによってその態度を固定するかも知れないこと、そうなれば自発的放電は容易に動揺するであろうこと、それ故不規則に放電しているニューロンというのは既に何かの条件付け工作に関係しているものであるかも知れないという事である。

## V. 要 約

猫で、条件反射の形成に重要な関連があると考えられている脳幹網様体の中、主として橋網様体に金メッキしたタングステン線微小電極(尖端約10 $\mu$ )を挿入し、ここから得られる自発性単位放電について、音、光及び肢電撃の3種の知覚刺激に対する反応を検べた。次にこれらの中の2刺激を夫々条件刺激及び無条件刺激として組合せて条件付け工作を行ない、その過程における網様体単位放電の態度について検討し

た。

1) 橋網様体から得られる自発性単位放電のスパイクには初期陰性二相型、初期陽性二相型及び三相型の3型がある。その持続時間は0.8-2.0msecである。この中、持続時間が1-1.5msecの初期陰性二相型スパイクが大半を占めていた(Tab. 1)。

2) 自発性単位放電はそのリズムが規則的なものと不規則なものとがあって、両者の比は49:51である。次に音刺激(ブザー又はベル)、光刺激(6-7c/s 或は 25c/s 間歇閃光)及び肢電撃の3種の知覚刺激に対する反応は、207単位について、これら3刺激のすべてに無反応のもの(38%)、これらの中の何れか1刺激のみに反応したもの(29%)、何れか2種の刺激に反応したもの(27%)及びこれら3刺激のすべてに反応したもの(6%)が認められた(Tab. 2)。

3) 一般に影響の少ない刺激(主に音刺激)をCSとし、影響の大きい刺激(光刺激或いは肢電撃)をUCSとして組合せて、73単位について条件付け工作を行なった。条件付けを始める前に既にCSによって放電数に影響が認められるときは、CSのみの反復による慣れ工作を行なった。

4) 1刺激のみの数十回乃至百数十回の反復による慣れ工作によって放電態度を変える単位もあるが、一般には変化しないものが多かった(85%)。即ちこの程度の反復では慣れは起らないと考えてよいだろう。

5) 2刺激の組合せによる条件付け工作により、或る単位放電はCSにより陽性条件反応を示し、また或るものは陰性条件反応を示すようになったが、このような条件付け工作にも拘らず、その発火態度を殆んど変化しない単位放電もかなりあった。更に、或る単位放電は後方条件付けと呼ばれるところの感作効果を示し、また、促進的效果を有するUCSと不関刺激のCSとの組合せにも拘らず、CSは制止効果を獲得した場合もあった。これらを含めて、単位放電の刺激に対する態度とその組合せによる効果から分類すれば、Tab. 3に示す通りである。即

ち、陽性或いは陰性条件反応の形成が認められたもの、条件付けによる効果の認められなかったもの及びその効果の不確実なものとの比は夫々 37:9:45:9 である。

6) 以上の成績から次のことが推論出来るだろう。条件結合の形成に重要な役割を果している脳幹網様体のニューロンをその各々について見れば、条件付け工作の過程における態度は個々の単位について必ずしも単純ではない。これらの単位の中、自発性放電が不規則で、且つ2種以上の知覚衝撃が集中するところの所謂多価ニューロンが条件付け工作に先ず働いて、陽性又は陰性条件反応の形成に貢献すると考えられる。

擱筆に当り、終始御懇篤なる御指導御鞭撻と御校閲を賜った吉井教授、並に実験研究に際して御協力頂いた教室の諸兄に深謝の意を表します。

#### 文 献

- 1) Ricci, F., B. Doane and H. Jasper (1957) Micro-electrode studies of conditioning: technique and preliminary results. The 1st International Neurological Congress in Bruxelles.
- 2) Jasper, H., F. Ricci and B. Doane (1958) Micro-electrode analysis of cortical cell discharge during avoidance conditioning in the monkey. The 2nd International Neurological Congress in Moscow.
- 3) Yoshii, N. (1957) Principes méthodologiques de l'investigation électroencéphalographique du comportement conditionné. EEG Clin. Neurophysiol., Suppl. **6**, 75
- 4) Yoshii, N., P. Pruvot et H. Gastaut (1956) A propos d'une activité rythmique transitoirement enregistrée dans la formation reticulée mésencéphalique et susceptible de représenter l'expression électroencéphalographique de la trace mnémonique. Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences. **242**, 1361
- 5) Yoshii, N., P. Pruvot and H. Gastaut (1957) Electroencephalographic activity of the mesencephalic reticular formation during conditioning in the cat. EEG Clin. Neurophysiol. **9**, 595
- 6) Yoshii, N., J. Matsumoto and Y. Hori (1957) Electroencephalographic study on conditioning reflex in animals. Premier congrès international des Sciences neurologiques Bruxelles.
- 7) Brodal, A. and G. F. Rossi (1955) Ascending fibres in brainstem reticular formation of cat. Arch. Neuro. Psychiat. Chicago. **74**, 68
- 8) Scheibel, M. E., A. Scheibel, A. Mollica and G. Moruzzi (1955) Convergence and interaction of afferent impulses on single units of reticular formation. J. Neurophysiol. **18**, 309
- 9) Palestini, M., G. F. Rossi and A. Zanchetti (1957) An electrophysiological analysis of pontine reticular regions showing different anatomical organization. Arch. ital. Biol. **95**, 97
- 10) Mancia, M., K. Mechelse and A. Mollica (1957) Microelectrode recording from midbrain reticular formation in the decerebrated cat. Arch. ital. Biol. **95**, 110
- 11) Brodal, A. (1958) *The Reticular Formation of the Brain Stem*. W. R. Henderson, London.
- 12) Brock, L. G., J. S. Coombs and J. C. Eccles (1952) The recording of potentials from motoneurons with an intracellular electrode. J. Physiol. **117**, 431
- 13) Frank, K. and M. G. F. Fourtes (1955) Potentials recorded from the spinalcord with microelectrodes. J. Physiol. **130**, 625
- 14) Cohen, M. I. and S. C. Wang (1959) Respiratory neuronal activity in pons of cat. J. Neurophysiol. **22**, 33
- 15) Amassian, V. E. and R. V. de Vito (1954) Unit activity in reticular formation and nearby structures. J. Neurophysiol. **17**, 575
- 16) Baumgarten, R. von, A. Mollica und G. Moruzzi (1954) Modulierung der Entladungsfrequenz einzelner Zellen der Substantia reticularis durch corticofugale und cerebelläre Impulse. Pflüg. Arch. ges. Physiol. **259**, 56
- 17) 小倉博人 (1959) 猫脳幹網様体の単位放電に関する研究 II. カテコール、覚醒アミン、ネンブタール及びメジマイドの影響 日本生理志 **21**, 1160

### Summary

Changes in the unit discharge of pontine reticular formation in the cat following sensory stimulations and conditioning procedure have been investigated by means of gold-plated tungsten microelectrodes (about 10  $\mu$  in diameter). The sensory stimulations used were buzzer sound, intermittent flash light and electrical stimulation of the hindlimb.

1) There were three types in the spike form of spontaneous unit discharge: initial negative diphasic (78%), initial positive diphasic (9%) and triphasic forms (13%) (Tab. 1). As for the regularity of the spontaneous rhythms, regular and irregular discharges were observed and the rate was 49% to 51% (Tab. 2).

2) Effects of these sensory stimulations on the reticular unit discharge were classified into four types on the basis of close examination of 207 unit discharges: those not influenced positively or negatively by any stimulus (38%), those influenced by any one of these stimuli (29%), those influenced by any two stimuli (27%) and by every type of these stimuli (6%) (Tab. 2).

3) If the stimulus to be used was effective on the unit discharge before conditioning, it was repeated more than several ten times, but the effect on the unit discharge was not changed in the majority (85%); namely, the habituation was not proved in this experiment.

4) Following conditioning procedure by combination of indifferent stimulus (CS) and effective stimulus (UCS) on 73 unit discharges, positively (37%) and negatively conditioned responses (9%) were produced, but no response (45%) or no clear response (9%) was also observed (Tab. 3).

5) From the result shown in Tab. 3, it is supposed that in the brainstem reticular formation the unit discharges with irregular rhythms and those polyvalent neurons which are converged with several sensory impulses act at first to produce the positively or negatively conditioned response.

*(2nd Department of Physiology, Osaka University School of Medicine)*

猫脳幹網様体の単位放電に関する研究 612.827/8

II. カテコール, 覚醒アミン, ネンプタール及びメジマイドの影響

Studies on the Unit Discharge of Brainstem Reticular Formation in the Cat.

II. Effects of Catechol, Amphetamine, Nembutal and Megimide.

(本論文の要旨は第8回日本脳波学会と第20回近畿生理学談話会で発表した.)

小倉博人 (OGURA-Hiroto)\*

I. 緒言

前報で著者は、橋網様体に微小電極を挿入して得られる単位放電について、音、光、及び肢電撃の3種の知覚刺激に対する反応とこれらの中の2刺激の組合せによる条件付け工作を行なった場合に、この部の単位放電が如何なる態度をあらわすかを検討した<sup>1)</sup>。このような単位放電は知覚刺激のみならず、化学刺激に対しても反応するであろうと考える。そこで

本篇では、脳幹網様体に有効に作用すると考えられる2, 3の薬剤の単位放電に及ぼす影響についてしらべた。

II. 実験方法

方法はさきの論文<sup>1)</sup>と大体同様であるから、その詳細は省略する。猫を無麻酔のままクラーレで不動化した状態、*encéphale isolé* 或いは *cerveau isolé* 状態で使用した。記録電極は金メッキをほどこしたタングステン線微小電極 (尖

\* 大阪大学医学部第2生理学教室 (吉井直三郎教授) [昭和34年8月21日受付]

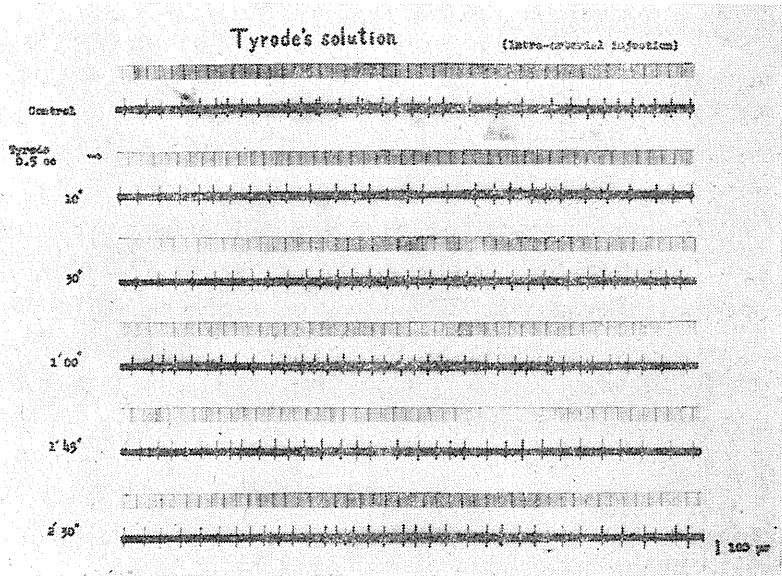


Fig. 1.

The effect of Tyrode's solution injected into the internal carotid artery on the pontine reticular unit. No effect was observed.

Numbers in left side show the time after the injection. Time marks 0.1 sec and 0.01 sec; amplitude calibration 100 $\mu$ V.

端約 10 $\mu$ ) で、単極誘導法により記録した。

脳幹網様体に有効に作用すると考えられている薬剤の中、ここに使用したのはカテコール、覚醒アミン、ネンプタール及びアンチバルビ (田辺) (メジマイド,  $\beta, \beta$ -methylethyl glutarimide) である。これらの薬剤を股静脈内、或いは内頸動脈内に注射した。この際注射の操作により動物に動揺を与えないために、長さ約 30cm, 外径約 0.8mm のビニールチューブの一端を静脈又は動脈内に挿入して固定し、その他端に取付けた注射器から薬剤を急速に、あるいは徐々に (20-60 秒間に互り) 注射する方法をとった。各

薬剤の体重 1kg 当りの投与量は次の通りである。

	(静脈内注射)	(動脈内注射)
カテコール	3-5 mg/kg	0.5-1.0mg/kg
覚醒アミン	0.3-0.5mg/kg	0.1-0.2mg/kg
ネンブタール	3-7mg/kg	1-2mg/kg
アンチバルビ	4-5mg/kg	0.8-1.5mg/kg

電極の刺入部位は前報の場合と同様である。

### Ⅲ. 実験成績

#### A. 対照

橋網様体の単位放電に対する薬剤の影響を楨べる前に、対照として生理食塩水、Ringer 氏液、Tyrode 氏液等の影響をしらべたが、ここに使用した程度では股静脈内、或いは内頸動脈内注射による放電頻度の変化は殆んど認められなかった (Fig. 1, 2)。この際、速い掃引のBraun管撮影で単位放電の単一スパイクを時々記録して、そのスパイクの形と持続時間および振巾か

ら、観察している単位放電を同定した。

#### B. 各薬剤の影響

##### 1. カテコール

カテコールは通常脳波や行動に対する影響から、網様体に対して促進作用を有するだろうと期待される。単位放電についてその影響をしらべた結果では、個々の単位によって反応の現われ方が様々であった。その1例をあげるならば (Fig. 3, 4), 初め約 7c/s の頻度で自発的に発火していた単位放電 (振巾 150 $\mu$ V, 持続時間 1.0 msec, 以下同様に記載) はカテコール (0.02mol, 0.5cc) の動脈内注射によって、その数秒後には殆んど消失し、同時に小振巾の新しい単位放電 (100 $\mu$ V, 1.3msec) が 35-40c/s の頻度で出現した。しかしこの新しい単位放電は時間の経過と共に放電数が次第に減少し、注射後3分以上経過すれば殆んど消失した。これとは反対に、初めから自発的に放電していてカテコール注射後一時的に発火を停止した単位は、次第に元の状態に回復した。これとよく似た結果は他の例 (Fig. 4, A) でも見られたが、この場合には初め自発的に放電していた2種の単位放電は、カテコール注射後夫々相反する効果を現わし、その一方は放電頻度を増加し、他方は減少した。

カテコールの静脈内注射でも大体同様で、単位によってその影響は複雑な結果をしめた。一般には静脈内注射によって放電数が著明に増加する例の見られることが少なかった。或る例では (Fig. 5, A) カテコール (0.05mol, 2cc) を約50秒間に互り徐々に静脈内注射したが、注射開始後約10秒で放電数が一時的に減少した外に著しい変化が見られなかった。又他の例では (Fig. 5, B), カテコール (2cc) を急

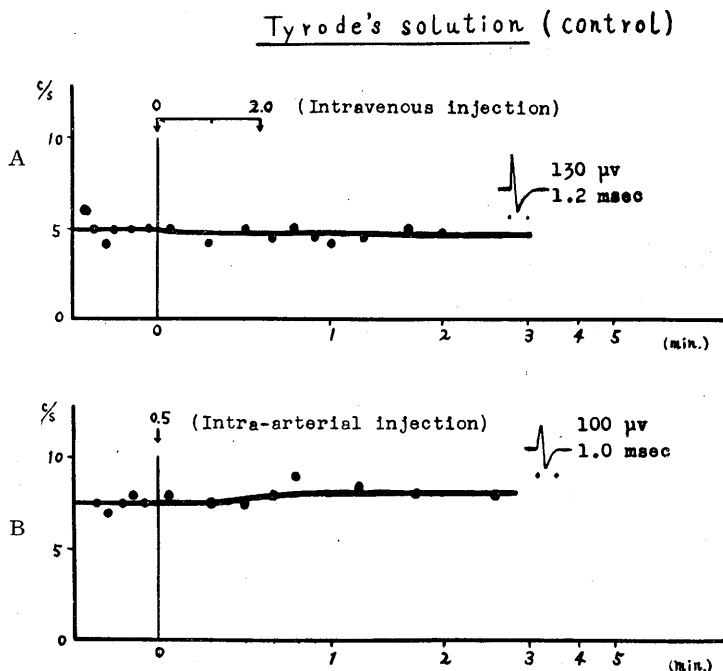


Fig. 2.

Graphs showing the effect of Tyrode's solution injected into the femoral vein (A) and into the internal carotid artery (B).

Ordinate: number of spike discharges (c/s); abscissa: time after the injection (min.).

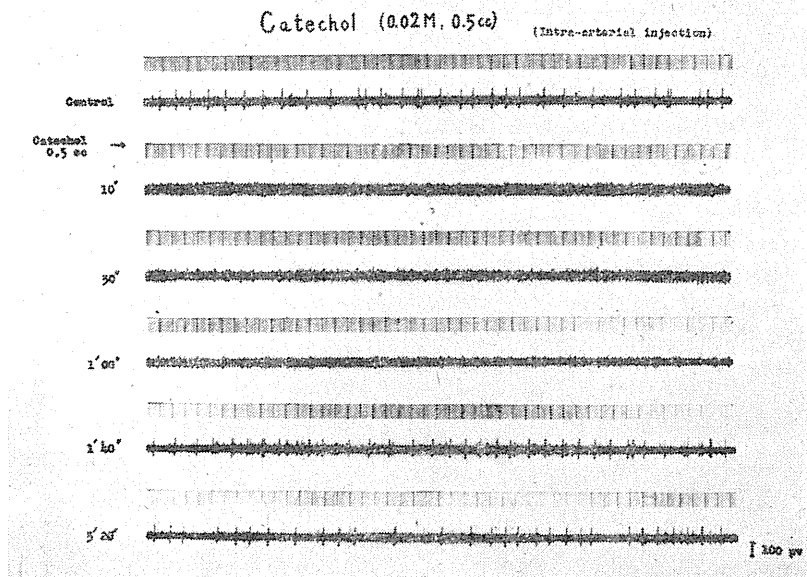


Fig. 3.

The effect of Catechol (0.02mol, 0.5cc) injected into the internal carotid artery on the pontine reticular unit. The spontaneous discharge disappeared and new spikes were recorded, but the former reappeared and the latter disappeared in 1'40" after the injection.

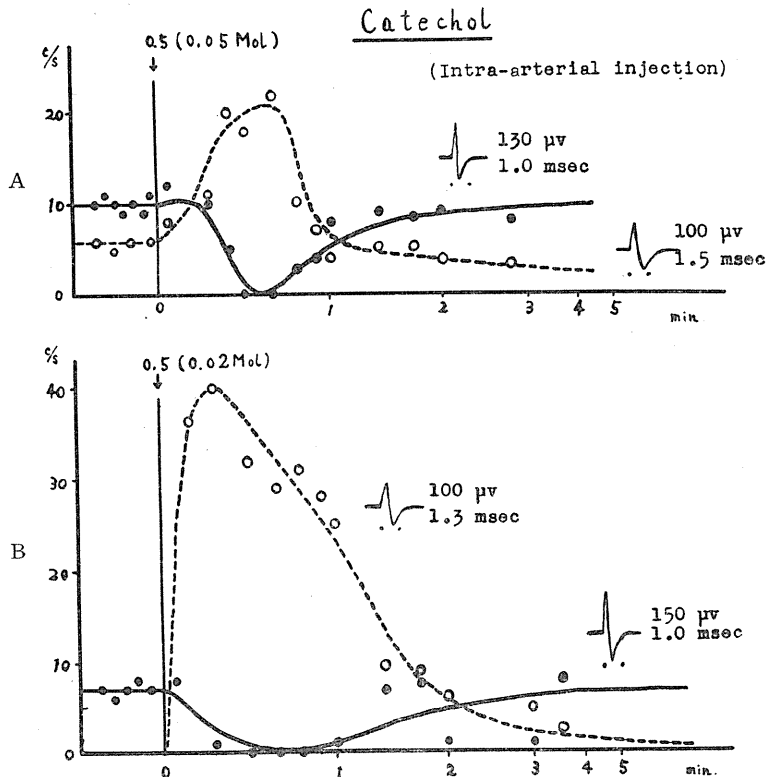


Fig. 4.

Graphs showing the effect of Catechol injected into the internal carotid artery. B: graph representation of the result in Fig. 3.

速に静脈内注射したとき、注射後10-20秒で制止効果が見られ、40-50秒後には促進効果が見られ、その後再び放電数を減少して、次第に元の状態に回復した。

2. 覚醒アミン

覚醒アミンも通常脳波に対する影響から促進的効果が期待されるが、単位放電について見れば、カテコールの場合と同様にその反応は単位によって様々であった。1例を示せば、最初自発的に発火していた単位放電(150 $\mu$ V, 1.3 msec)は覚醒アミン(0.1%, 0.5cc)の動脈内注射によって数秒後には消失し、これに代って小振幅の新しい単位放電(100 $\mu$ V, 1.5msec)が発火し始めた。時間の経過とともに

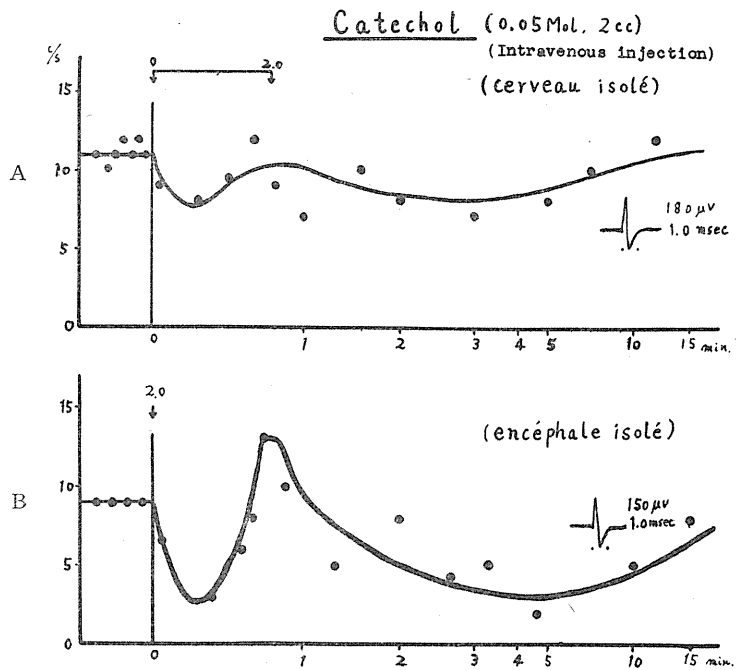


Fig. 5. Graphs showing the effect of Catechol injected into the femoral vein.

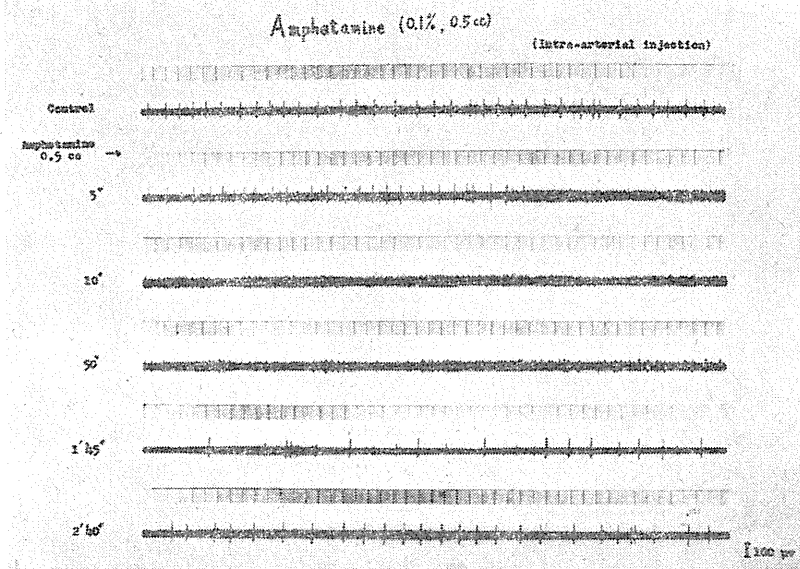


Fig. 6.

The effect of Amphetamine (0.1%, 0.5cc) injected into the internal carotid artery on the pontine reticular unit. The spontaneous discharge disappeared and new spikes occurred several seconds after the injection, and then the former reappeared and the latter disappeared.

この新しい放電は次第に減弱して、それと対応して注射後一時放電を停止していた単位が再び回復するのが見られた (Fig. 6, 7).

静脈内注射の場合でも単位によっては複雑な経過を示すものがあった (Fig. 8). Fig. 8, Bに示した例は、自発的に発火していた3種の単位

放電は覚醒アミンの静脈内注射により、3者ともに同様の促進的效果を示した。

3. ネンプタール

バルビツール系薬剤は通常脳波に対する影響から単位放電に対する制止的效果が期待されたが、大体期待通りの結果が得られた (Fig. 9, 10).

しかし、ネンプタールの注射直後に一時的に放電数を増加し、その後に制止效果を示した例も観察された (Fig. 10, A).

静脈内注射の場合でも同様に、主として制止的效果が認められた (Fig. 11).

4. アンチバルビ

抗バルビツール剤であるアンチバルビを静脈内、或いは動脈内注射したとき、一般に促進的效果をあらわすものが多く見られた。しかし、少数ではカテコール、或いは覚醒アミンの場合に見られたような制止效果を示したものが観察された。即ち後者では Fig. 3, 4 及び Fig. 6, 7 と同様の経過をしめしており、最初自発的に発火していた単位放電

(250 $\mu$ V, 1.2msec) はアンチバルビ (0.5%, 0.5cc) の動脈内注射の数秒後には殆んど消失し、これに代って小振中の新しい単位 (150 $\mu$ V, 1.0msec) が発火し始め、10秒後には連続的放電の様相をあらわしたが、時間の経過とともに次第に減弱して遂には消失した。注射によって一時的に放電数を減じた単位は、新しく出現した単位の減弱と共に再び回復した (Fig. 12, 13).

注射によって一時的に放電数を減じた単位は、新しく出現した単位の減弱と共に再び回復した (Fig. 12, 13).

C. 時間的關係から見た効果の分析

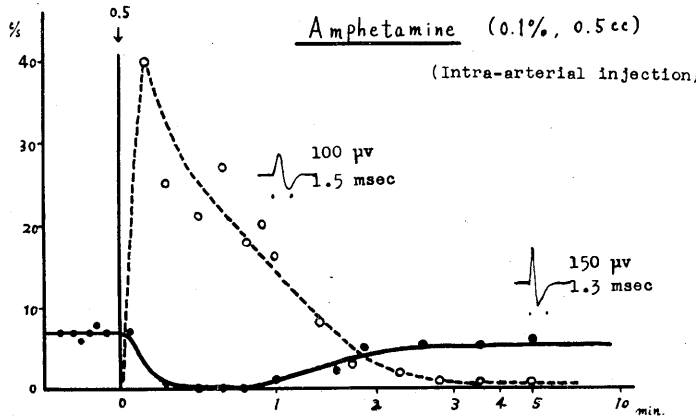


Fig. 7.

Graph showing the effect of Amphetamine injected into the internal carotid artery in Fig. 6.

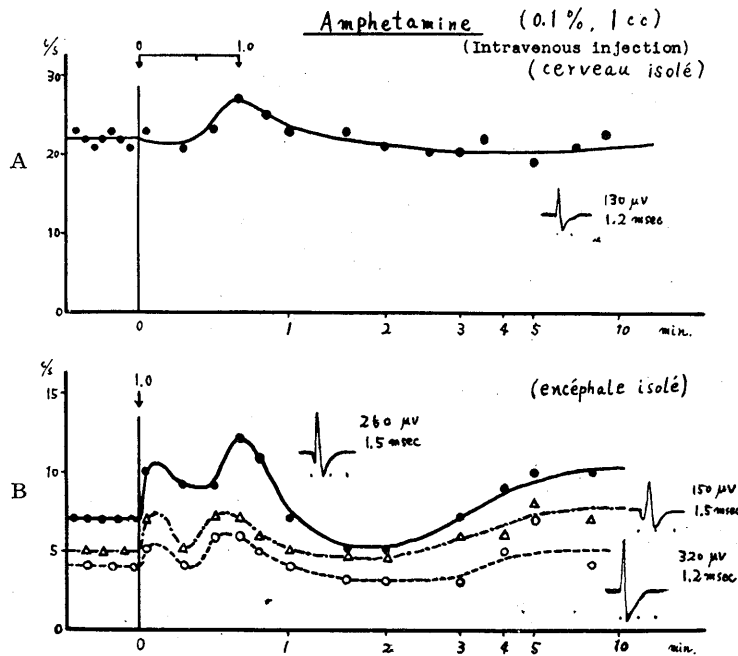


Fig. 8.

Graphs showing the effect of Amphetamine injected into the femoral vein.

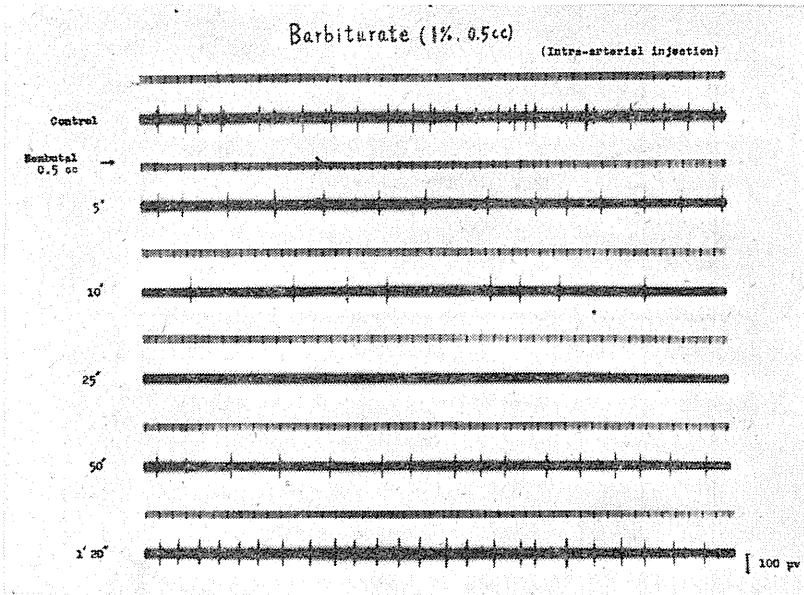


Fig. 9.

The effect of Nembutal (1%, 0.5cc) injected into the internal carotid artery on the pontine reticular unit. One of two spontaneous discharges disappeared gradually after the injection and then reappeared, but another disappeared immediately after the injection and not reappeared.

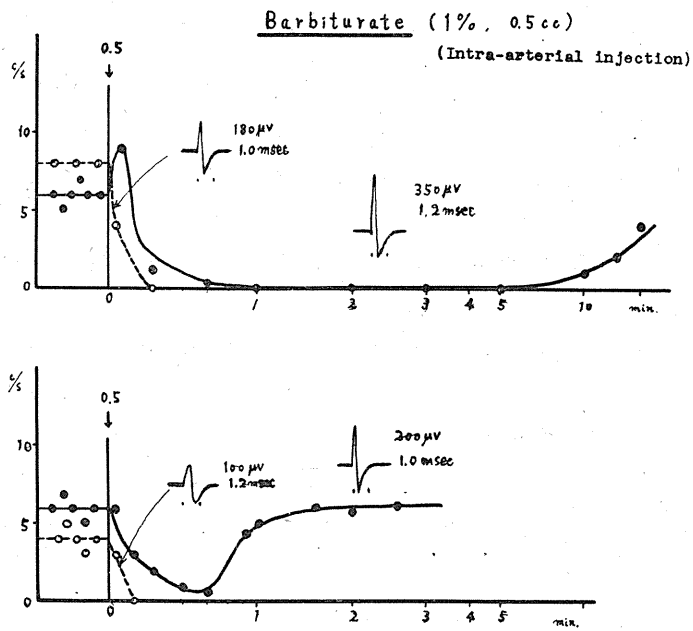


Fig. 10.

Graphs showing the effect of Nembutal injected into the internal carotid artery. B: graph representation of the result in Fig. 9.

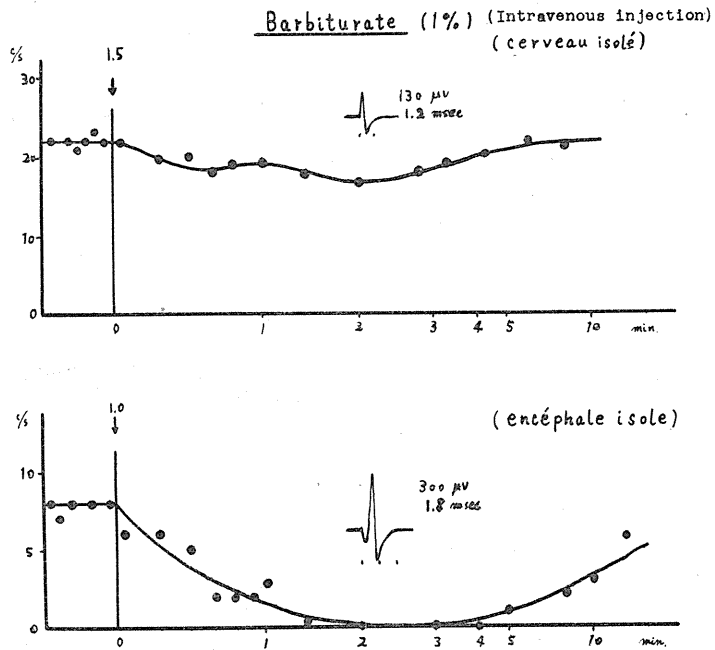


Fig. 11. Graphs showing the effect of Nembutal injected into the femoral vein.

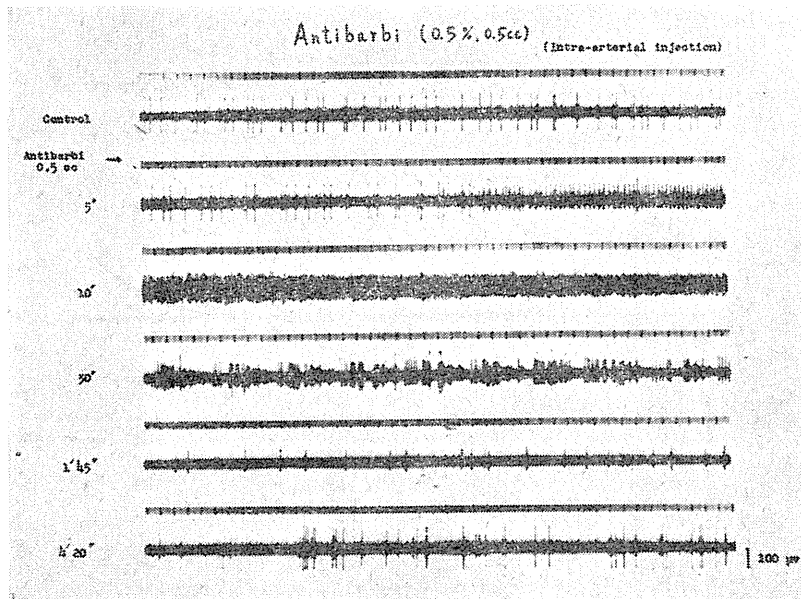


Fig. 12.

The effect of Antibarbi (0.5%, 0.5cc) injected into the internal carotid artery on the pontine reticular unit. The spontaneous discharge disappeared and new spikes appeared in high frequency several seconds after the injection, and then the latter disappeared and the former reappeared. But the facilitatory effects were observed in general.

上に述べた如く各薬剤の橋網様体単位放電に対する影響はかなり複雑であった。クラールによる不動化状態, *encéphale isolé* 或いは *cerveau isolé* 状態で実験したが, その結果にこれらの実験条件の差異は殆んど認められなかった。そこで薬剤注射後の時間的關係からこれを分析した。

静脈内注射の場合は注射後約20秒以内にあらわれた反応を一次反応, それ以後の反応を二次反応として, 夫々の場合についてその成績を分

類すれば Tab. 1. 及び Tab. 2. の如くであった。例えば, 薬剤の注射によってその直後から促進的効果があらわれ, その後も引続いて促進的であるときは (+, +), 注射直後は促進的効果を示したがその後に抑制的となったときは (+, -) と一次反応及び二次反応を表わし, 夫々についてそれらの例数を数字で示した。

この2つの表から夫々一次, 二次反応についてまとめると Tab. 3 の如くである。この表から明らかな通り, 注射後短時間内にあらわれた

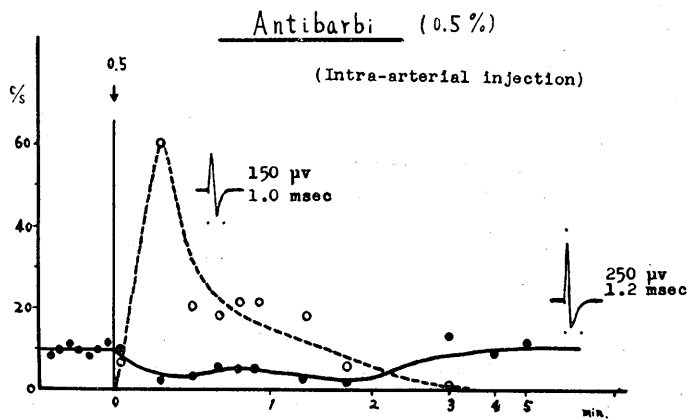


Fig. 13.

Graph showing the effect of Antibarbi injected into the internal carotid artery in Fig. 12.

Table 1.

Analysis of effects of drugs injected into the internal carotid artery on the unit discharge from the relation in primary (Pr.) and secondary response (Sec.).  
Intra-arterial injection (*encéphale isolé* preparation)

Pr.	Sec.	Catechol	Barbiturate	Amphetamine	Antibarbi
+	+	3		2	3
+	-	1	1		
+	0				
-	-	1	3	1	
-	+				
-	0	1		1	1
0	0		2	2	
0	+				1
0	-	2			
Total		8	6	6	5

一次反応から見れば、例えばカテコール注射によって或る単位では放電数を増加し、また或る単位では減少して、両者は殆んど同数である。しかし二次反応から見れば、促進的効果をあらわした単位の方がより多く観察された。覚醒アミンもカテコールの場合と殆んど同様に、一次反応では促進的なものと制止的なものとはほぼ同数に認められたが、二次反応では促進的効果をあらわす単位の方がより多く観察された。

ネンブタールは大体に一次、二次反応ともに制止的効果をあらわした単位が多いが、注射直後に一過性の促進的効果をあらわしたものも見られた。アンチバルビもまた、一次、二次反応ともに放電数を増加させた単位が多く見られた。

IV. 考 察

除脳猫、或いは無麻醉猫では脳幹網様体ニューロンは自発的に活動しており、ここに微小電極を挿入することによって得られる単位放電<sup>2)3)</sup>はいろいろの知覚刺激や、大脳又は小脳の刺激によって容易に影響を受けることが知られている<sup>4)5)</sup>。また著者は、2種の知覚刺激の組合せによる条件付け工作の過程で、橋網様体の単位放電が如何なる態度を示すかに就いて、前に報告した<sup>1)</sup>。

脳波や行動に対する影響から、脳幹網様体に興奮的(覚醒アミン)、或いは抑制的(バルビツール剤)に作用する薬剤が知られている<sup>6)7)</sup>。またカテコールはフェノール系物質であって、クレゾールと共に痙攣作用のあることが吾が教室から報告されている<sup>8)</sup>。脊髄前角ニューロンでは、単シナプス反射及び複シナプス反射ともに、カテコール注射によって増強され、また相反性制止機構もこれ

Table 2.  
Analysis of effects of drugs injected into the femoral vein on the unit discharge from the relation in primary (Pr.) and secondary response (Sec.).  
Intravenous injection

Pr.	Sec.	Catechol			Barbiturate			Amphetamine			Antibarbi
		a	b	c	a	b	c	a	b	c	a
+	+		1	2				3		3	1
+	-	2			2	1				1	
+	0			1				2			2
-	-	1		1	2	1	1	3		1	1
-	+	1	1	1					1	4	
-	0	1	2				2				
0	0	1					1	3	1		2
0	+	2	1	1	2			2	1		1
0	-	1					1				
Total		20			13			25			7

Pr.: primary response. Sec.: secondary response. +: facilitatory effect. -: inhibitory effect. 0: no effect. a: encéphale isolé. b: cerveau isolé. c: curarized.

Table 3.  
Analysis of effects of drugs on the unit discharge in relation to the primary and secondary response.

Drugs	Injec-tion	Catechol		Barbiturate		Amphetamine		Antibarbi	
		ven.	art.	ven.	art.	ven.	art.	ven.	art.
Pr.	+	6	4	3	1	9	2	3	3
	-	8	1	6	3	9	2	1	1
Sec.	+	10	10	2	0	13	2	2	4
	-	5	5	8	4	5	1	1	0
		+ ≥ -		+ < -		+ ≥ -		+ > -	

によって強められる事を述べている<sup>9,10</sup>。更に、脳幹にも作用して賦活するという報告がある<sup>11</sup>。またアドレナリン及びアセチルコリンの網様体単位放電に対する影響については Bradley & Mollica<sup>12</sup>の報告がある。ここではカテコール、覚醒アミン、バルビツール及び抗バルビツール剤の単位放電に及ぼす影響に就いて検討した。

通常脳波や行動に対する影響から、網様体単位放電について促進的或いは制止的效果が期待された薬剤でも、個々の単位によって様々な態度を示す事が著者の成績から明らかになった。即ち、カテコールや覚醒アミンは注射後数十秒以後に現われた二次反応（薬剤の直接作用ではなく、中枢の他の部に対する作用、又は末梢に対する作用によって間接的に影響したと想像される）から見れば、大体期待通りの促進的效果を示した単位が多く観察されたが、注射後短時間内に現われるところの所謂一次反応（直接薬剤が作用したと想像される）では、或る単位では放電数を増加したが、同時に他の単位では減少するのが見られた。この事は注射薬の興奮準位において、両者の放電が互に拮抗する如きメカニズムは、或る2単位の放電を記録し得る位置に電極がうまく挿入されていたものであらうと考えられるが、或る単位が放電を減少することによって他の単位が放電を増加することは、網様体ではごく普通に行なわれているように考えられる。ネンプタール及びアンチバルビは概して期待通りの結果が得られたが、それでも尙上述した如きニューロンの連鎖型式によって、一時的には予期に反する反応を示すものも観察された。

網様体の単位放電と所謂脳波とは本質的に異なるものであるから、これらに予想通りの関係が得られない事は当然である。この事は既に大脳皮質における錐体細胞性放電と皮質表面脳波とに関して、Jasper等が述べている<sup>13,14</sup>。先に報告した如く<sup>1</sup>、橋網様体単位放電について2刺激の組合せによる条件付け工作を行なった場合でも、これら単位放電のあらゆる態度は複雑であった。促進的效果を有する刺激をUCSと

して、これに不関刺激であるCSを組合せたとき、当然に陽性反応の形成が期待されたのに、予期とは全く反対の陰性効果が条件付けられたこともあった。薬剤の影響についても同様で、同一の化学刺激が或る単位には促進的效果を示し、また他の或る単位には制止的效果をあらわした。

これらの成績から考慮すれば、網様体ニューロンの結合は簡単な直線の連鎖ではなくて、複雑な回路、或いは側鎖回路を有し、促進及び抑制機構を内包しているのであらうと推察される。

## V. 要 約

猫を用い、クラーレによる不動化状態、或いは *encéphale isolé, cerveau isolé* 標本につき橋網様体に微小電極を挿入し、ここより得られる単位放電を対象として、カテコール、覚醒アミン、ネンプタール及び抗バルビツール剤（アンチバルビ）の股静脈内、或いは内頸動脈内注射の影響を検べた。

1) カテコール及び覚醒アミンは網様体単位放電に対し、注射後短時間内に現われる一次反応に於いては、或る単位では放電数を増加し、また或る単位では減少し、その影響は各単位により一様ではなかった。しかしその後現われた二次反応に於いては、促進的效果をあらわす単位が多く見られた。

2) ネンプタールは網様体単位放電の一次、及び二次反応ともに制止的效果を示したものが多かった。しかし、注射直後に一時促進效果を示した例も観察された。

3) アンチバルビによって、網様体単位放電は促進的效果を示したものが多いが、制止的效果の見られたものもあった。

4) 以上の成績から次のことが推察される。通常脳波所見その他から脳幹網様体に促進的、或いは抑制的に影響していると考えられる薬剤でも、単位反応について見ればその影響は個々の単位によって様々であって、同一の薬剤でも或る単位には促進的に働き、また或る単位には

制止的に作用する。この事実から、網様体ニューロンはその連鎖型式が複雑であって、簡単な直線的連鎖ではなく、回帰回路又は側鎖回路によって促進的及び制止的メカニズムを内包しているのであろうと想像される。

擱筆に当り、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った吉井教授、御指導御鞭撻を賜った松本助教、並に実験研究に際して御協力頂いた教室の諸兄に深謝の意を表します。

#### 文 献

- 1) 小倉博人 (1959) 猫脳幹網様体の単位放電に関する研究 I. 条件付け工作における単位放電の変化 日本生理誌 **21**, 1178
- 2) Brodal, A. and G. F. Rossi (1955) Ascending fibres in brainstem reticular formation of cat. Arch. Neuro. Psychiat. Chicago. **74**, 68
- 3) Scheibel, M. E., A. Scheibel, A. Mollica and G. Moruzzi (1955) Convergence and interaction of afferent impulses on single units of reticular formation. J. Neurophysiol. **18**, 309
- 4) Palestini, M., G. F. Rossi and A. Zanchetti (1957) An electrophysiological analysis of pontine reticular regions showing different anatomical organization. Arch. ital. Biol. **95**, 97
- 5) Mancina, M., K. Mechelse and A. Mollica (1957) Microelectrode recording from midbrain reticular formation in the decerebrate cat. Arch. ital. Biol. **95**, 110
- 6) Bradley, P. B. and B. J. Key (1958) The effects of drugs on several responses produced by electrical stimulation of the reticular formation of the brain. EEG Clin. Neurophysiol. **10**, 97
- 7) King, E. E. (1956) Differential action of anesthetics and interneurone depressants upon EEG arousal and recruitment response. J. Pharm. Exp. Therap. **116**, 404
- 8) 松本淳治 (1957) フェノール誘導体による痙攣 最新医学 **12**, 2408
- 9) 東田昭二 (1957) 前角ノイロンの同期性放電に関する研究 (2) 筋同期放電出現時の脊髓反射機能 (電気麻酔及びカタコール, クレゾール痙攣) 日本生理誌 **19**, 589
- 10) 東田昭二・丸山治朗・小倉博人 (1957) フェノール系物質の複シナップス反射に及ぼす影響 日本生理誌 **19**, 852
- 11) 小池 淳 (1959) フェノール誘導体の痙攣作用について 阪大医誌 **11**, 1981
- 12) Bradley, P. B. and A. Mollica (1958) The effect of adrenaline and acetylcholine on single unit activity in the reticular formation of the decerebrate cat. Arch. ital. Biol. **96**, 168
- 13) Ricci, G., B. Doane and H. Jasper (1957) Microelectrode studies of conditioning: technique and preliminary results. The 1st International Neurological Congress in Bruxelles.
- 14) Jasper, H., G. Ricci and B. Doane (1958) Microelectrode analysis of cortical cell discharge during avoidance conditioning in the monkey. The 2nd International Neurological Congress in Moscow.

#### Summary

Changes in the unit discharge of pontine reticular formation in the cat introduced by certain drugs known to act on the brainstem reticular formation have been investigated by means of microelectrode. The drugs used were catechol, amphetamine, nembutal and antistarbi (megimide), and were injected into the internal carotid artery or into the femoral vein.

1) From the result of routine EEG-observations, catechol and amphetamine have been considered facilitatory to the brainstem reticular formation. According to the observation of unitary response, these two drugs did not produce the same effect on every neuron; they possessed facilitatory action upon some neurons and simultaneously inhibitory action upon the other immediately after the injection. But after several ten seconds the facilitatory effect appeared in the majority.

2) Nembutal had in most instances an inhibitory effect upon unit discharge both in the initial and successive stages, as had been suggested by routine EEG. However, there were several neurons of which the rate of discharge was transiently increased only immediately after the administration of the drug, and was decreased markedly thereafter.

3) Antistarbi, an antagonist of barbiturate, generally produced facilitatory effects both in the initial and successive stages on the unit discharge of the pontine reticular formation.

4) From these facts it is supposed that the neurons in the reticular formation are connected not in the form of simple chain, but with reverberating circuits or with side chains, including facilitatory or inhibitory mechanisms in them.

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

## Guanidine 痙攣 について 612.741.1 : 612.014.469

Convulsive Action of Guanidine to the Motor  
Cells of Central Nervous System of Dogs.

牛久保 喜一・二村 芙美江 (USHIKUBO-Kiichi・NIMURA-Fumie)\*

### I. 緒 論

冷血動物の剔出骨筋例 えば 縫工筋を0.2% Guanidine Ringer 溶液中に入れると、季節にもより温度にもよるが、10~20分以内の潜時でリズムある運動(収縮)が起き、数十分間続く、この現象を Guanidine 収縮と名付ける<sup>1)</sup>。

この現象は Guanidine が運動神経末端の終板(end plate)に作用して起るということはほぼ確定的である。即ち筋繊維に作用して起るのではない<sup>2)3)</sup>。そこで神経繊維には同一現象はないかというに、冷血動物の坐骨神経の2cm位の髄鞘(Perineurium)を剥ぎ脱鞘神経を作ってこれに Guanidine を投与してみると、炭酸 Guanidine も塩酸 Guanidine もまったく脱鞘神経に興奮を起すことはない。換言すれば神経繊維にも、筋繊維にも Guanidine は何等働くものでなく end plate に作用してこの働きをもつものと云える。

然らば中枢神経の運動系に対してはどうであろうか。皮質には運動神経節細胞もあるし運動神経節細胞に特有な synapse もあると考えられているがそのいずれでも Guanidine が影響して運動現象を示すことはないかを決定するため著者等は次の実験を試みた。

### II. 実験方法並びに実験成績

#### A. 皮質直接投与法

##### 1. 実験方法

実験動物は雑種の成犬で、体重10kg前後のものを用い、無麻酔のもとに当教室の方法<sup>4)</sup>に従って腹位に固定し開頭術も当教室の方法によ

り目的とする運動領並びに運動領外皮質を露出し他部の露出を出来るだけ避けた。Guanidine は溶液として運動系灰白質内注射を行なった。注射針は1/5mm針をつけ、注射筒は0.01ccまで目盛のある特殊なものを用い皮質表面に対してやや斜に深さ2~3mm刺入して強圧を加えず濾出を避けて注射した。1回注入量は0.03~0.2ccで注射部位は Gyrus sigmoideus 中の Gyrus Pericruciatius 並びに Gyrus postcruciatius を中心としてあらかじめ富田式電気刺戟器で皮質に刺戟を与え反応良好な部位を選んだ。Guanidine は炭酸 Guanidine と塩酸 Guanidine の混合をそれぞれ水溶液又は Ringer 溶液として用いた。濃度は2 mol 室温は25~30°Cを保つ様にし露出部は体温に温めた温血用 Ringer 液によって温度下降と乾燥を防いだ。

##### 2. 実験成績

総数8例中2例に間代性痙攣(以下KKと略す)を認めた。即ち

1) 炭酸 Guanidine 2 mol 水溶液の投与例では6例中1例にKKを認めたがKK(一)例は左右皮質にそれぞれ2~3回の注入を行なったが鼻部及び眼瞼に僅に痙攣を認めただけであった。

2) 塩酸 Guanidine 2 mol 水溶液の投与例では1例中1例にKKを認めなかった。

3) 炭酸 Guanidine と塩酸 Guanidine の混合2 mol Ringer 溶液の投与例では1例中1例にKKを認めた。即ち最初0.03ccを皮質に与えたがKKがみられなかったので0.1ccを追加注入した所15秒の潜時をおいてKKが起きた。このKKは15秒間継続し25分を経過したがKKが引続き起らないので同側皮質に0.1ccを追加投与した所2分25秒の潜時をおいてKKを繰返し遂に Statusepilepticus の状態で死に至った。

\* 慶応義塾大学医学部生理学教室

(昭和34年8月14日受付)

第1表 皮質直接投与例

No.	体重 (kg)	注入量 (cc)	注入濃度 (mol)	注入回数	Guanidine	KK	LK	Nystagmus	Status epilepticus
1	7	0.1	2	1	G. carb.	(-)	(-)	(-)	(-)
2	9	0.2	2	2	G. carb.	(-)	(-)	(-)	(-)
3	5	0.4	2	3	G. carb.	(+)	(+)	(-)	(-)
4	6	0.6	2	4	G. carb.	(-)	(-)	(-)	(-)
5	6	0.2	2	2	G. carb.	(-)	(-)	(-)	(-)
6	5	0.4	2	4	G. carb.	(-)	(-)	(-)	(-)
7	7	0.5	2	4	G. hydro.	(-)	(-)	(-)	(-)
8	10	0.36	2	5	G. 混合	(+)	(+)	(+)	(+)

以上の如く Guanidine は皮質直接投与では KK は 8 例中 2 例にのみ認めただけで痙攣の起りにくいことが判った。

## B. 髄液内投与法

### 1. 実験方法

#### イ) 小脳延髄槽注入法

皮質投与例と同様の条件の犬を選び麻酔を施さず腹位に固定し、後頭結節と第一頸椎との中央で窄刺針を大後頭孔の辺縁に衝突させこれをずらして約 5cm 刺入して大槽内に入れた。

#### ロ) 側脳室内投与法

皮質投与法と同様の方法で側頭部を開頭し髄膜上より Fissura entolateralis の線上で F. suprasylvius media. と F. suprasylvius anterior の移行部と直角に交る点を見つけ、これより静かに正中に平行か、稍正中に向け約 22mm 刺入する。刺入後いったん注射筒のピストンを引き髄液の逆流を確かめ脳室窄刺の適正を確認する。

#### ハ) 蜘蛛膜下腔内投与法

皮質投与法と同様の方法で側頭部を開頭し刺入可能の範囲に出来るだけ小さく蜘蛛膜を露出し、膜上より皮質を損傷することなく注意しながら 1/5mm 針で蜘蛛膜下腔に投与する。

### 2. 実験成績

皮質と同様に炭酸 Guanidine, 塩酸 Guanidine, 並びに両者の混合をそれぞれ水溶液又は Ringer 溶液として用い総数 11 例に投与し 6 例に KK を認めた。即ち

#### イ) 小脳延髄槽内投与例 (7 例)

7 例共炭酸 Guanidine, 塩酸 Guanidine, 両者混合 2 mol Ringer 溶液を 0.2~2.0cc 注入し 2 例に於いて潜時 15 秒~30 秒で KK を認めたが他は顔面の KK を起しただけであった。

死亡までの時間は 3 分 20 秒~1 時間位であった。

#### ロ) 側脳室内投与例 (2 例)

塩酸 Guanidine 2 mol 水溶液を 1cc 注入し 2 分 15 秒~3 分の潜時で KK が発現し 22 分~1 時間で死亡した。2 例中 2 例に KK を認めた。

#### ハ) 蜘蛛膜下腔内投与例 (2 例)

このうちの 1 例は炭酸 Guanidine 2 mol 水溶液 1cc 注入後 21 分 10 秒の潜時で側頭筋に与えた電気刺戟の直後 KK を惹起し 1 時間 37 分で死亡するまで KK を不規則な間隔をおいて繰返した。他の 1 例は炭酸 Guanidine 2 mol 水溶液 1cc 注入後 40 分の潜時で、側頭筋を釣で剝離した直後 KK を惹起しその後 KK が中止すると電氣的刺戟又は機械的刺戟を与えることによって KK を直ちに起し得た。なお 9 回目の刺戟で KK をおこしたのち死亡まで Status epilepticus の状態をつづいた。KK が停止するときには必ず LK に移行して終る。KK 中は眼球震盪 (Nystagmus) を伴った。

第 2 表の結果明かなことは側脳室、蜘蛛膜下腔注入では全例に KK が発現するが、小脳延髄槽注入では全身性の KK の発現は少ない。

## C. 頸動脈迅速投与法 (頸動脈迅速投与の理論)

Glutamin 酸 Na の場合 1~2 mol 溶液を 1~2cc 迅速に頸動脈に投与することにより KK その他の痙攣が起る。又皮質直接投与でも KK が起るが同じ濃度のものを静脈注入しても致死量に至るまで KK は起らない。のみならず、頸動脈でも緩徐に注入する時には致死量に至るも KK は起らない<sup>5)6)</sup>。換言すれば Glutamin 酸系物質は循環系に入っても KK は起さず、皮質に直接作用する場合に KK を起す。頸動脈迅速注入とい

第2表 髄液内投与例

No.	体重 (kg)	注入量 (cc)	注入濃度 (mol)	注入回数	Guanidine	投与部位	KK	LK	眼球振盪	Status-epilepticus
1	5	2	2	1	混合 Ringer 溶液	小脳 延髄 槽内	顔面	(-)	(-)	(-)
2	5	0.5	2	1			眼瞼	(-)	(-)	(-)
3	9	0.5	2	2			頸部マデ	(-)	(+)	(-)
4	10	1.4	2	4			顔面マデ	(-)	(-)	(-)
5	8	0.5	2	1			(-)	(-)	(-)	(-)
6	10	0.5	2	1			(+)	(-)	(-)	(-)
7	9	1.5	2	2			(+)	(+)	(-)	(-)
8	10	1.0	2	1	G. hydro.	側脳室	(+)	(+)	(+)	(-)
9	9	3	2	3			(+)	(+)	(+)	(+)
10	7	1	2	1	G. carb.	蜘蛛網 膜下腔	(+)	(+)	(+)	(+)
11	8	1	2	1			(+)	(+)	(+)	(+)

うことは皮質直接に頸動脈灌流範囲内の節細胞に薬物の有効濃度以上が速に動脈より濾出されるものが有効で同じ理論から頸動脈迅速注入は循環系一般に薬物を与えるものではないから致死量は静脈系で mg/kg で測られるが、痙攣量は mg/kg そのままでは測られず一種の計算式を用いる (小山氏法<sup>7)</sup> による)。

1. 実験方法

皮質投与例と同様の条件の犬を選び、麻酔を施さず背位に固定し頸部正中線上で皮膚切開を行ない一側又は両側の頸動脈を約 3cm の長さに互って露出し注射針は注入を出来るだけ速かに且つ一定にするため 1/1 針を用い、注入時間は 1cc/1sec の迅速注入を行なった。

2. 実験成績

総数 9 例中 7 例に KK を認めた。KK を認め

なかった 2 例は濃度 1mol であった。KK 例はすべて濃度 2mol で 2~3cc を迅速注入により 1 分 30 秒~30 秒 (平均 59 秒) の潜時で瞳孔散大、眼球振盪、唾液分泌増加を伴った KK を起し KK 中止後 LK に移行し不規則な間隔をおいて KK を繰返し、遂に Status epilepticus の状態で平均 45 分間で死亡した。尚 1mol 水溶液の頸動脈迅速注入例では同側に静脈注入も同濃度、同量行なったが KK は認められなかった。致死量は平均 158mg/kg と推定される。

一側頸動脈迅速注入により痙攣を伴う場合も伴わぬ場合も注入反対側の瞳孔不同症 (anisocoria) を全例に於いて認めた。即ち運動系とは無関係に Guanidine は自律神経節細胞を刺戟する働きがあることが判る。

第3表 頸動脈迅速注入例

No.	体重 (kg)	注入量 (cc)	注入濃度 (mol)	注入回数	Guanidine	注入時間 (sec)	KK	LK	眼球振盪	Status-epilepticus	致死量 (mg/kg)
1	8	2	1	1	塩酸 G	2	(-)	(-)	(-)	(-)	生存
2	6	2	1	1	塩酸 G	2	(-)	(-)	(-)	(-)	生存
3	8	3	2	1	炭酸 G	3	(+)	(-)	(-)	(-)	135
4	8	3	2	1	炭酸 G	3	(+)	(+)	(+)	(+)	135
5	6	4	2	2	炭酸 G	2	(+)	(+)	(+)	(-)	240
6	11	5	1	3	炭酸 G	3	(+)	(+)	(-)	(-)	147
7	10	5	2	2	炭酸 G	25	(+)	(+)	(+)	(+)	180
8	8	25	2	1	炭酸 G	25	(+)	(+)	(+)	(+)	112
9	5	3	2	1	炭酸 G	4	(+)	(+)	(+)	(+)	218

第4表 静脈注入例

No.	体重 (kg)	注入量 (cc)	頸動脈注入量	頸静脈注入量	Guanidine	注入量 (mg/kg)	KK	LK	転機
1	8	4	1mol 2cc	1mol 2cc	塩酸 Guanidine	47	(-)	(-)	生存
2	6	4	1mol 2cc	1mol 2cc	塩酸 Guanidine	63.7	(-)	(-)	生存

### Ⅲ. 総括的考察

余等は Guanidine を種々なる投与方法によって中枢神経運動系に作用させた結果皮質直接投与、髄液内投与、頸動脈迅速投与共それぞれ KK を認めた。以上の結果から Guanidine は運動系節細胞に対して刺戟となる物質である事は確であるがその刺戟は一体如何なる性質を有するか、試みに潜時に注目してみると皮質運動領野に直接投与した場合は30秒、頸動脈迅速投与で45~60秒である。この事は濃度を充分与える時には速かに節細胞に活動を起させるという性質を有していることが明瞭でその直接刺戟作用と比較すれば blood brain barrier はさしたる長さを有しないと想像出来る。換言すれば完全なる直接痙攣剤と考えられる。この意味では Metrazol, Glutamin酸 Na, Picrotoxin, Strichinin 等と全く同じ運動系発動作用を有する。然るにこれを髄液内注入の場合に検すると潜時は20~40分という単位となり特にその投与部位によって差がある。即ち側脳室、小脳延髄槽、蜘蛛網膜下腔の順に潜時が大となった。このことは Guanidine が投与部位により KK 細胞に至る過程の難易を示すもので blood brain barrier が甚だ大なるものと考えられる。この特徴は従来経験した各種痙攣物質のうち Guanidine に特有なものである。痙攣は Picrotoxinization 並びに Strichinization<sup>8)</sup>に於けると同様唾液分泌、散瞳を伴ったもので march of movemet が存する KK であることも同じである。KK は LK に移行した後に中止し不規則な間隔をおいて繰返し KK の全例死の転機をとった。即ち痙攣閾値と致死量との差異が小である。KK 14例中7例に Staturepilepticus の状態を認め、12例に Nystagmus を認めた。頸動脈注入例では全例に注入例と反対側の瞳孔に散瞳を示す Anisocoria を認めた。静脈注入例では2例中2例共 KK を認めなかった。致死量は約158mg/kg と推定される。

### Ⅳ. 結 論

1. Guanidine 溶液としその極めて少量を犬の皮質運動領野に直接与えると間代性痙攣 (KK) を起した。

2. Guanidine 溶液を髄液内投与すると同じく KK が起る。側脳室、小脳延髄槽、蜘蛛網膜下腔のいずれに於いても著明であるが潜時は頸動脈より入るものよりはるかに長い。

3. Guanidine 溶液の頸動脈迅速投与では60秒以内の潜時で著明なる間代性痙攣 (KK) を起した。

4. 頸動脈迅速注入により反対側の瞳孔に散瞳をおこした。即ち Anisocoria を認めた。

5. Guanidine は中枢神経節細胞に対して直接作用の働きがある。

林謙教授の御指導並びに御校閲と加藤元一教授、富田恒男教授の御鞭撻に対し心から御礼申し上げる。又多大の御援助を下された教室員の方々に感謝の意を表する。

### 文 献

- 1) 丸山忠男; グアニジン収縮について (日本生理誌掲載予定)
- 2) 堤 時彦・増田四郎 (1957) グアニジンと TEA の反復収縮について 日本生理誌 **21**, 50-55
- 3) 堤 時彦 (1958) Ca イオン欠乏による運動神経終板の伝達中断に対する Guanidine の恢復作用 日本生理誌 **21**, 15-25
- 4) 須田 勇・斎藤修三 (1942) 条件反射 3 輯 22-35
- 5) 千葉正子 (1956) 諸種物質の頸動脈並びに背椎動脈注射による中枢神経運動系の研究 日本生理誌 **18**, 8
- 6) 谷 道也 (1954) Glutamin 酸 Na 及び Asparagin 酸 Na の頸動脈注射による痙攣について 日本生理誌 **16**, 11
- 7) 小山生子 (1958) 諸種痙攣物質の頸動脈注入と脳室内注入との濃度の比較 慶応医学 **35**, (7号) 633-637
- 8) 伊藤国男・石塚 保・渡辺武之助 (1942) 大脳皮質運動領に対する Picrotoxinization 並びに Strichinization に就て 条件反射 **3**, 76-92

**Summary**

1) High concentrated guanidine solution introduced into the cortical motor area of dogs produced the generalized seizure.

2) High concentrated guanidine solution introduced into the cerebrospinal fluid of dogs produce also a generalized seizure.

3) High concentrated guanidine solution introduced rapidly into carotid artery of dogs produced convulsion with latent period of 60 sec., at the sametime it produced aniso-coria contralaterally.

*(Department of Physiology, School of Medicine, Keio University)*

**Anticarnitine の髄液内投与による痙攣について** 612. 741. 1 : [612. 83 : 612. 014. 469

Convulsion Induced by Injection of Anticarnitine into Cerebrospinal Fluid.

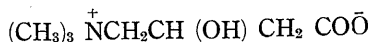
牛久保 喜一・二村 芙美江 (USHIKUBO-Kiichi・NIMURA-Fumie)\*

I. 総 論

塩縮機制作業仮説から林等<sup>1)</sup>は、筋収縮を起させる物質 (K 因子) を Carnosine と同定し<sup>2)</sup>、塩縮を筋外より与えれば抑制する物質を Carnitine ( $\gamma$ -amino- $\beta$ -oxybutylobetain) と同定した<sup>3)</sup>。

Carnitine は犬の皮質運動領及び髄液内の投与によって運動現象を起すかというにまったくその事はない。しかるに Carnitine はごく少量の Carnosine を混合して投与すると強い痙攣作用を現わす。

Carnitine は次の様な構造式である<sup>4)</sup>。



即ち  $\gamma$ -trimethylamino- $\beta$ -hydroxy-n-butyrac acid (Vitamine B<sub>11</sub>) である。東京大学農学部の松井正直等により、このカルニチン類物質として Anticarnitine (仮称) が発表され<sup>5)</sup> 科研に於いて合成された。

Anticarnitine は昆虫ビタミンとしての Carnitine に対しては拮抗作用をもち、Carnitine のビタミン作用を抑制する。然らばこの物質の生理学的な働き、特に中枢神経運動系に対する働きは如何。ここに 2, 3 の実験を試みた。なお Anticarnitine の構造式は次の様である<sup>6)</sup>。即ち Carnitine のカルボン酸基をスルホン酸基に置換せる物質である。



モル重量は 197 である。

II. 実験及び実験方法と考察

1) 電気刺激による間代性痙攣を抑制する働きの有無をたしかめる実験

\* 慶応義塾大学医学部生理学教室  
〔昭和34年8月14日受付〕

実験方法<sup>7)</sup> : (1) 雑種成犬 10kg 内外を無麻酔の下に腹位に固定し、S字回を含めて皮質運動領を広く露出する。(2) 電源 2V でポーター型インダクトリウムを用いて電極は 0.3mm 白金分極電極で極間距離 2mm, 刺激頻度 1 秒間 40~50 回を用いた。(3) 予備実験 電極を皮質運動領におき 5 秒間通電し、電極を離れた後に 60 秒内外続く間代性痙攣 (以下 KK と略す) を観察する。(4) 本実験 予備実験と同様の方法で 5 秒間通電し、電極を離して 1~2 秒後に反対側の脳室に有鍔外套針より Anticarnitine 水溶液を注入し、電氣的 KK が静止する時間を観察し、予備実験で得た電氣的 KK の持続時間と比較し抑制効果の判定をする。

第 1 表

注入濃度	注入前 KK 持続時間 (秒)	注入後 KK 持続時間 (秒)	判定
1 0.1M 1cc	55	30	0
2 0.1M 1cc	77	150	(+)
3 0.1M 1cc	44	6	(-)
4 0.1M 1cc	48	44	0
5 0.5M 1cc	32	35	0
6 0.5M 1cc	40	10	(-)
7 0.5M 1cc	27	15	0
8 0.5M 1cc	35	36	0
9 1.0M 1cc	55	1	(-)
10 1.0M 1cc	55	60	(+)

第 2 表 第 10 例

♂ 12kg 室温 23°C

4'15" 執刀右側運動領露出  
左側脳室に有鍔外套針穿針  
5'14" 試験的電気刺激 TK (+)  
14'5" 電気刺激止め KK (+)  
15'0" KK (-)  
17'0" 呼吸正常となる  
5'18'0" 電気刺激 TK (+)  
5" 電気刺激止め (KK)  
6" 1.0M 1cc Anticarnitine 注入  
40" KK益々強くなる  
19'5" KK (-) 呼吸 (-)  
50" 呼吸恢復

0.1M1cc~1.0M1cc Anticarnitine 水溶液では第 9 例が抑制効果が明らかであるのに続いて、

第3例, 第6例にわずかにその傾向を見たが, 第2例, 第10例の如くかえってKKを増強せしめた例を見たので次の実験を行なった。

## 2) Anticarnitine 水溶液の髄液内投与

実験方法: 1)と同様の方法で犬を固定し, 頭頂部に小孔を開け, これより有鋸外套針を側脳室に刺入するか又は後頭下より大槽内に刺入し髄液の流出をたしかめて Anticarnitine 水溶液を注入した。

第3表

	注入濃度	潜時(秒)	痙攣	痙攣時間(秒)
1	0.5M1cc		(-)	
2	0.5M2cc		(-)	
3	0.5M2cc		(-)	
4	2.0M1cc		(-)	
5	2.0M1cc	970	(+)	207

第1例は0.5M1cc, 第2-第3例は同じく2ccを投与したが, 運動現象は起らぬ。これに対して2.0M1ccの2例中1例は明らかに痙攣を生じしかも反復して最後 Staturepilepticus の型になる間代性痙攣を見た。

松井等は Anticarnitine の生理試験は未だ行っていないから, 果してカルニチンに対する拮抗作用があるか否か不明であるとのべているが, 私共の実験では, 中枢神経運動系に対しては興奮作用があるといえる。

## Ⅲ. 結 論

Anticarnitine (仮称) を髄液内投与したが,

電氣的刺戟による間代性痙攣に対しては, これを増強する傾向が見られ, 単独に約2.0M1ccを投与して間代性痙攣の発現を見た。

擱筆するに当って, 終始御懇篤なる御指導と御校閲の勞を賜った本学生理学教室主任林藤教授に対して深甚なる感謝の意を表する。

## 文 献

- 1) 林 藤; 神経興奮の化学・生命現象の化学 第13章
- 2) 須田 勇・宮木高明・足立千鶴子・鬼頭京子 (1951) 骨格筋より抽出した筋収縮催起物質と抑制物質について 日本生理誌 **13**, (第9号)
- 3) 富田雅次 (1951) Untersuchungen in Embryochemie und Vergleichender Biochemie über oxyamino saure und Ketten-Ring-isomerie der Aminosäure und Verschiedenes. Masaji Tomita-Gesamwelta Werke.  
II. Herausgegeben von Junji Karashima. Kobe Japan
- 4) H. E. Carter, P. R. Bhattacharyya, K. R. Wildman, G. Frankel (1953) Federation Proceeding **10**, 170; H. E. Carter PK Bhattacharyya, K. R. Weldman, G. Frankl (1952) Arch. Biochem. Biophys. **38**, 405; (1952) **35**, 241
- 5), 6) 松井正直・宮野真光・寺田 豊 (1957) カルニチン類物質の研究 DL- $\gamma$ -Trimethylamino- $\beta$ -hydroxypropanesulfonic Acid (DL-Anticarnitine) の合成 日本農芸化学誌 **31**, (4号) 233
- 7) 牛久保喜一 (1959) 電氣的刺戟による皮質性痙攣に対する  $\gamma$ -Amino- $\beta$ -hydroxy 酪酸の抑制作用 日本生理誌 **21**, 616-621

## Summary

Carnitine which was introduced into cerebrospinal fluid of dogs produced a seizure when some dipeptide was accompanied. On the contrary anticarnitine which was antagonist to carnitine in the growth of insect had itself a convulsive action when it was introduced into c. s. f. of dogs, and it made an augmentation of electric current to stimulate the motor cells.

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

## ビタミンB<sub>1</sub>及びその類物質の髄液内投与痙攣の機制に

就いて 612.741.1 : 612.83 : 612.014.469

Mechanism of the Convulsion Induced by Injection of Vitamin B<sub>1</sub> and  
the Allied Substances into Cerebrospinal Fluid of Dogs.

二村 美美江 (NIMURA-Fumie)\*

### 1. 緒 論

中枢神経に2つの生理学的過程が存在することは脊髄に於いて Sherrington<sup>16)</sup>, 大脳に於いて Pavlov<sup>13)</sup> がきわめて鮮かに示した所である。この両過程に特定の化学物質が関与しているということは Loewi, O.<sup>6)</sup>, Dale, H.H.<sup>1)</sup> の化学的伝達学説が事実としてあまねく証認せられて以来諸家によって鋭意研究されている所であるが、1958年の Annual Review of Physiology で Paton (英)<sup>14)</sup> がこの如き考えは長い間時計の振り子のように動揺し来ったにもかかわらず、今なお続いているが acetylcholine (ACH) 以外に確たる物質を挙げるに至ったものはない、とすらいつている。

しかるに1956年に至って Elliott, Florey<sup>2)</sup> が同時に林及び永井<sup>3)</sup> が、中枢抑制過程の物質は  $\gamma$ -amino 酪酸又は  $\beta$ -hydroxy  $\gamma$ -aminobutyric acid であろうと論じている。このカナダと日本の意見の相違はその実験の方法からも来ているというのは前者はざりがにの張受容器 (stretch receptor) で検しているし後者は犬に於ける皮質性痙攣の抑制を検している。然し更に重要なことは林等は、GABOB ( $\beta$ -hydroxy  $\gamma$ -aminobutyric acid) の方に重点をおくべきであると固執しているのは GAB ( $\gamma$ -aminobutyric acid) は、(1)抑制のみならず時として、(2)痙攣を起すことがしばしばあるという点にもとづいて

大城<sup>12)</sup>, 佐藤<sup>15)</sup>等はこの点を追求して遂に GAB はビタミンB<sub>12</sub>又は folic acid を補酵素と

してこれに ATP による energy 供与があると一定の潜時の後に痙攣物質に変化するという実験的確証を得た。ビタミン B<sub>12</sub> 又は folic acid は methyl 化を促す補酵素であることから、methyldonor を検すると methionine でなく、choline であることが判った。然らばこの場合の energy 供与は ATP を直接与えることのみよるか、或いは糖分解によって energy を動かすビタミンB<sub>1</sub>によっても同じ現象が生ずるか或いは更にビタミンB<sub>1</sub>によって分解せらるる基質の濃度を高くすることでも推進することも出来るか、糖分解に於いては最も重要な物質は焦性ブドウ酸であるから、このものを基質として与えられることによっても推進されるであろうか。著者はこれら一連の実験を試み GAB 痙攣に関する energy 供与の機制を知らんとして本研究を試みた。

### II. 実験方法及びその理論

1) 動物は雑種の成犬で 10kg 前後のものをを用い、当教室の方法<sup>17)</sup>で腹位に固定し、無麻酔のもとに頭頂部に約5cmの皮膚切開を行なって側頭筋を剝離して頭頂骨を露出し、これに小孔を開けて、有鍔外套針を静かに刺入し、側脳室に確実に針尖が達した事は髄液の外套針よりの流出によって確認した。なお2、3の例外はあったが、開孔部は左右耳介の前縁を結ぶ線上で正中線より0.7cm外側部が最適で、この部の骨表面より側脳室までの平均距離は、2.2cmであった。投与物質はすべて水溶液として与え、室温は常に20~27°Cの間を保持した。

2) 実験の indicator は物質投与後に発現する興奮状の現象や、Tremor 等のあいまいな現

\* 慶応義塾大学医学部生理学教室 (林巖教授)

[昭和34年8月14日受付]

象は除外し、安定な間代性痙攣 (Klonischer Krampf 以下KKと略す) のみとした。

3) 髄液実験の理論は、すべての酵素、すべての基質の存在する脳髄に或る基質又は補酵素を外より与えて、その投与した物質がその現象に参与しているものならば質量作用によって推進される筈であるという考え方にもとづく。一般生化学者が試験管内で脳の homogenate や slice (或いは抽出した酵素に) に基質や補酵素を与えて温度を体温にしてガス発生や酸素消費を標示として実験をするのと全く同じ理論である。私の方法は脳脊髄液内に補酵素又は基質を加えて、痙攣が起るかどうかが、即ち痙攣を起す物質が生産されたかどうかを標示として、投与物質の変化を定量的に検するのを認識方法とする実験である。痙攣物質即ち中枢神経内の陽性過程の物質が過剰に多く生じたことを意味する。痙攣物質を生産する酵素は脳髄内に存在し常にはその少量を生産しつつあるものとみられるが、外より多量の基質を与えることによって脳髄内基質の量が増せば従って痙攣物質生産の量も増すから、投与した基質がそれに用いられる基質であるかどうかは痙攣が起きるかどうかが決定することが出来る筈である。又補酵素については常に脳髄内にその補酵素が存在するに違いないが、これを外から加えることによって同じ化学変化を推進するかどうかは、やはり痙攣が起きるかどうかが定められる。もし起ればその推進し得た補酵素がその反応に参与していると言える。或いは真の補酵素の代理をした補酵素であったかが、十分に決定せられる。さらに基質についてはどうか。これには2つの意味があり、(1)基質が変化して痙攣物質の材料になるという意味と、(2)基質が分解せられてenergyを供与しよって痙攣物質を生産せしめたのであるか、いずれにしても候補となる物質を投与して痙攣が起きるかどうかが決定すればわかる。以上の諸要素を同時に組合せて与えることによって、さらにその化学変化の様相と痙攣物質の本態とが想像せられるであろう。

用いた物質は、焦性ブドウ酸、ビタミンB<sub>1</sub>、

その他(市販品)  $\gamma$ -amino 酪酸 (科学研究所又は小野薬品株式会社のもの) Co-carboxylase 即ち Thiamine phosphate (武田メタボラーゼ) Thiamine propyl-disulfide すなわち TPD, Thiamine  $\beta$ -hydroxyethyl disulfide 即ち TOE D (武田薬品株式会社より特別供与を受けたもの) 等である。

### Ⅲ. 実験成績

#### [A] 基質としての焦性ブドウ酸

##### 1. 焦性ブドウ酸痙攣の実験

第1表

Concentration of Pyruvic acid	Seizure	Latent periods	Number
0.02M (1.0ml)	(-)		0/3
0.08M (1.0ml)	(-)		0/4
0.15M (1.0ml)	(-)		0/3
0.2M (1.0ml)	(+)	555sec	1/3
0.4M (1.0ml)	(+)	225~660sec	3/5

第1表の如く焦性ブドウ酸の側脳室投与では痙攣閾値は0.2M~0.4M 1ccであった。即ち焦性ブドウ酸のみで長い潜時で痙攣を起す。潜時の平均は427秒で、KKは約1分間隔で数回に互り繰返し約30分後に正常にもどった。1例を示すと次の如くである。

第2表

3月9日 室温20°C 7kg ♀

11°20'	執刀
30'	開頭 (左側脳室へ刺入)
45°45''	0.2M 1cc焦性ブドウ酸水溶液注入
47'	低くなき始め唾液増加
54'	うなる
55'	眼→鼻とKK様変化が現われ同時に全身KK発現
55°10''	KK止る。と同時になく
57°30''	鳴き止み眼を閉ず
12° 0'20''	顔面のみKK
35''	止む
8°30''	顔面のみKK
9°30''	止む
12°15''	全身KK
20''	止む
12°40'	KK再び起らず

##### 2. 焦性ブドウ酸+ビタミンB<sub>1</sub>痙攣の実験

上記実験によって閾値がわかるので閾値の1/4から1/10の焦性ブドウ酸をビタミンB<sub>1</sub>と同

時に投与した。なおVB<sub>1</sub>の痙攣閾値の決定は実験(B)で行なっている。

第3表

Substances	Concentration	Seizure	Latent periods	Number
Pyruvic acid VB <sub>1</sub>	0.01M(1.0ml) 0.01M(1.0ml)	(-)		0/3
Pyruvic acid VB <sub>1</sub>	0.02M(1.0ml) 0.04M(1.0ml)	(+)	667sec	6/7
Pyruvic acid VB <sub>1</sub>	0.04M(1.0ml) 0.04M(1.0ml)	(+)	400sec	3/5
Pyruvic acid VB <sub>1</sub>	0.05M(1.0ml) 0.02M(1.0ml)	(+)	350sec	2/5

第3表でわかるように焦性ブドウ酸の濃度が高いほど潜時は短い。しかし焦性ブドウ酸の単独痙攣の平均潜時よりVB<sub>1</sub>の追加によって著明に短縮出来る様には思われぬ。なおVB<sub>1</sub>の単独痙攣の平均潜時は330秒である(実験(B)参照)。次に第3表の中の1例の実験経過を示すと第4表の如くである。

第4表

3月17日		室温23°C	9kg	♀
4'30'	執刀			
5'13'10"	Pyruvic acid 0.02M 1.0ml 次いで VB <sub>1</sub> 0.04M 1.0ml 注入			
30"	なき出し排便す			
15'	流睡増加			
16'	呼吸早く不規則となる			
21'	四肢を時々びくびくさす			
22'20"	暴れて吠える			
27' 0"	全身KK Nystagmus 現れる			
29' 0"	KK(-) 顔面KK残る Nystagmus(-)			
29'30"	顔面KK止む			
59' 0"	KK起らず			

即ち潜時 230 秒で突然全身KKを発現し顔面KKを残して持続時間120秒でKKが止んだ。

この例ではKKの繰返しを見なかった。焦性ブドウ酸+VB<sub>1</sub>痙攣では11例中3例に繰返しを見たのみで残り8例は繰返しを見ず約30分後に平常状態にもどっている。なお焦性ブドウ酸単独痙攣もVB<sub>1</sub>単独痙攣もほとんど全例にKKの繰返しを見ている(実験(B)参照)。

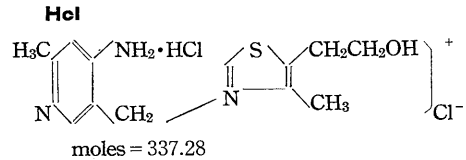
以上によってVB<sub>1</sub>の痙攣はエネルギー供与によることが判るが、このことからみてVB<sub>1</sub>の痙攣が同じ機制を持つことが判るが、その類物質については互いに如何なる差があるであろう

か。

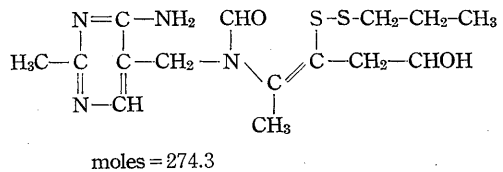
(B) ビタミンB<sub>1</sub>及びその類物質の単独髄液投与による痙攣

用いたVB<sub>1</sub>及び類物質は次に示す如きもの即ち

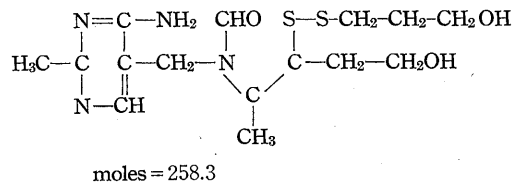
(a) Thiamine hydrochloride ; C<sub>12</sub> H<sub>17</sub> ClN<sub>4</sub> OS·Hcl



(b) Thiamine propyl-disulfide (TFD)

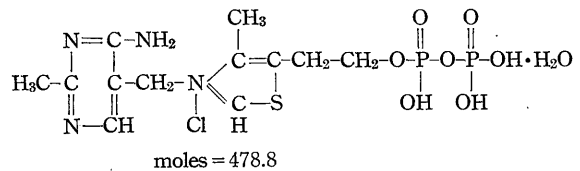


(c) Thiamine β-hydroxyethyl-disulfide (TOED)



(d) Thiamine diphosphate (TDP)

= CO-carboxylase



上記4物質の髄液投与による痙攣の有無、潜時及び痙攣閾値を示すと次の如くである。

第5表

Substances	Critical concentration	Latent period	Seizure
TDP	0.01~0.02M(1.0ml)	180~300	(+)
VB <sub>1</sub>	0.1~0.2M(1.0ml)	300~330	(+)
TPD	0.2M(1.0ml)	240~540	(+)
TOED	0.4M(1.0ml)	480	(+)

VB<sub>1</sub>は一旦体内でリン酸化されて働くであろうという生化学的の考え方は、TDPのKK閾値がVB<sub>1</sub>の1/10と低いことによってもわかる。

又TPD, TOEDは一旦細胞内に入ってVB<sub>1</sub>となつてから働くことが知られているが<sup>7)</sup>, この事実をKKを標示として知る実験は[E]で示す。

### [C] 焦性ブドウ酸+TPD痙攣の実験

TPD (Thiamine propyl-disulfide) の実験は[B]でのべたが, このものはVB<sub>1</sub>の誘導體で, S-propyl がSHの所に結合したもので既にThiamineと同様な作用があることが報告せられてゐる。単独投与では0.2M 1ccでKKを起すので, 焦性ブドウ酸, TPD 共痙攣閾値以下の濃度で同時に投与した所, 第6表の如き結果を見た。

第6表

Substances	Concentration	Seizure	Number
Pyruvic acid TPD	0.04M (1.0ml) 0.075M (1.0ml)	(-)	0/1
Pyruvic acid TPD	0.04M (1.0ml) 0.15M (1.0ml)		

焦性ブドウ酸はVB<sub>1</sub>の時と同様の0.04M 1ccを用いたがTPDは閾値の1.5/2を用いてもKKを起さないで次の実験を試みた。即ち閾値以下のTPDを投与し, 20分後に同量のTPDと閾値以下の焦性ブドウ酸を同時に投与した。

第7表

Substances	Concentration	Seizure	Number
Pyruvic acid TPD	0.04M (1.0ml) 0.075M (1.0ml)	(-)	0/2
Pyruvic acid TPD	0.04M (1.0ml) 0.15M (1.0ml)		

以上でThiamine (VB<sub>1</sub>) 及び類物質のTPDを検したが本来Thiamineは生体内で作用する時はdiphosphate (CO-carboxylase) となつて次の様な諸種作用を営むことが生化学的に証明せられてゐる。

- 1) Pyruvic acid  $\rightleftharpoons$  Acetic acid + CO<sub>2</sub>
- 2) Oxaloacetic acid  $\rightleftharpoons$  Pyruvic acid + CO<sub>2</sub>
- 3) Citric acid  $\rightleftharpoons$   $\alpha$  Ketoglutaric acid + CO<sub>2</sub>
- 4)  $\alpha$ -Ketoglutaric acid  $\rightleftharpoons$  Succinic acid + CO<sub>2</sub>

即ち上記実験よりいへば, 焦性ブドウ酸分解によるエネルギーを解放する作用をすることが明

らかであるが, これがTPDとなると生体内に入って一旦Thiamineとなり, さらにこれがDiphospho Thiamineとなつて働くのであるから, まったく同様の働きをなすが, その変化は細胞内に入って徐々に行なわれるとせられてゐる。事実上記の結果をみると焦性ブドウ酸とTPDでは痙攣を起していない。但し後の実験で示す様に一定時間の後に少量のThiamineを附加してやれば充分に働くことがわかる。

以上の実験により痙攣物質の発生の場合にVB<sub>1</sub>が補酵素としてエネルギー供与のために基質として用いるものは少なくとも焦性ブドウ酸である。そこで $\gamma$ -アミノ酪酸の場合にも同じ基質を用いてVB<sub>2</sub>及びその類物質が働くものとみて次の実験を試みた。

### [D] $\gamma$ -アミノ酪酸+ビタミンB<sub>1</sub>及び類物質の痙攣

#### 1) $\gamma$ -アミノ酪酸+ビタミンB<sub>1</sub>痙攣

$\gamma$ -アミノ酪酸 (以下GABと略す) のKK閾値は0.2M 1ccでVB<sub>1</sub>は0.1M 1ccである。この2者をそれぞれ閾値以下の濃度に於いて同時投与した実験を示すと次の如くである。

第8表

Substances	Concentration	Latent period	Seizure	Number
GAB VB <sub>1</sub>	0.01M (1.0ml) 0.025M (1.0ml)		(-)	0/4
GAB VB <sub>1</sub>	0.01M (1.0ml) 0.05M (1.0ml)			
GAB VB <sub>1</sub>	0.02M (1.0ml) 0.03M (1.0ml)	810sec	(+)	1/4
GAB VB <sub>1</sub>	0.02M (1.0ml) 0.04M (1.0ml)	427sec	(+)	2/3
GAB VB <sub>1</sub>	0.02M (1.0ml) 0.05M (1.0ml)	340sec	(+)	2/2

GABのKK閾値の1/10にVB<sub>1</sub>0.03M 1ccを同時投与して始めてKKの発現を見たが, VB<sub>1</sub>の混合する濃度が増すに従つて潜時は短縮してゐる。しかしVB<sub>1</sub>単独KKの場合の平均潜時よりは短くならない。なおGAB単独KKの平均潜時は900秒である。GAB+VB<sub>1</sub>痙攣の実験経過の1例を示すと次の如くである。

第9表

12月1日 室温 25°C 8kg ♂

1°40'	執刀
50'30''	GAB 0.02M 1cc次いでVB <sub>1</sub> 0.04M 1cc注入
54'	流唾増加, 吠える
58'	静か
59'15''	全身KK
45''	KK(-) LK(+) Nystagmus(+)
2° 0' 0''	LK(-) Nystagmus(+)
11' 0''	KK(+) Nystagmus(+)
12' 0''	KK(-)
40'	KK再び起らず平常にもどる

第9表の例ではKKは繰返し起きているが、痙攣例数5例中4例にこれを見た。繰返しを見ない1例はGAB 0.02M 1ccとVB<sub>1</sub> 0.03M 1ccの投与を行なった例で4例中1例にKKを見た場合で濃度もより低く潜時も810秒と最長となっている。

## 2) GAB+TDP (Thiamine diphosphate) 痙攣

GAB及びTDPを痙攣閾値以下の濃度で2者同時投与した実験を示すと次の如くである。

第10表

Substances	Concentration	Latent period	Seizure	Number
GAB	0.02M (1.0ml)		(-)	0/1
TDP	0.001M (1.0ml)			
GAB	0.002M (1.0ml)		(-)	0/2
TDP	0.005M (1.0ml)			
GAB	0.005M (1.0ml)		(-)	0/2
TDP	0.002M (1.0ml)			
GAB	0.005M (1.0ml)		(-)	0/3
TDP	0.005M (1.0ml)			
GAB	0.005M (1.0ml)	480sec	(+) 1/2	
TDP	0.01M (1.0ml)			
GAB	0.01M (1.0ml)	67sec	(+) 2/3	
TDP	0.005M (1.0ml)			

GABの痙攣閾値1/20~1/50とTDPの1/2の組合せでKKを見たが、GABの発動時間に比してTDPの潜時が短かいのでGAB+VB<sub>1</sub>痙攣よりKKが起きにくい。次に実験経過の1例を示す。

第11表

11月27日 室温23°C 8kg ♀

2°	執刀
47'	0.01M GAB次いで0.05M TDP注入
48'	上下のNystagmus起る
49'	左右Nystagmus現れると同時に前肢より背部から全身に渡るKKとなる
49'30''	KK止む. Nystagmus (-)
50'	呼吸大きくなる
54'	流唾増加
58'	なおあばれる
3°10'	平常状態にもどる

## 3) GAB+TPD痙攣

第12表

Substances	Concentration	Latent period	Seizure	Number
GAB	0.02M (1.0ml)		(-)	0/2
TPD	0.02M (1.0ml)			
GAB	0.02M (1.0ml)		(-)	0/3
TPD	0.05M (1.0ml)			
GAB	0.02M (1.0ml)		(-)	0/2
TPD	0.1M (1.0ml)			
GAB	0.2M (1.0ml)		(-)	0/2
TPD	0.15M (1.0ml)			
GAB	0.2M (1.0ml)	360sec	(+) 1/1	
TPD	0.2M (1.0ml)			

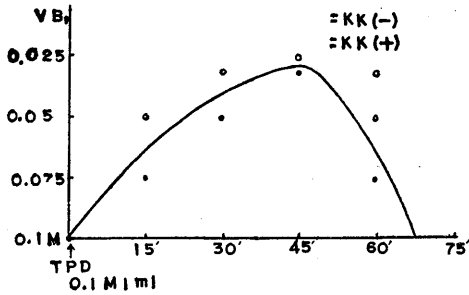
即ち、GAB及びTPD共それぞれの持つ痙攣閾値濃度のものを混じて始めてKKの発現を見た事は、TPDがGABと共に働く場合には、VB<sub>1</sub>やTDPの如くでないことがわかった。TPDは一旦体細胞の内で化学構造に変化を受けないと働かぬものとみれば、GABと同時投与では痙攣発動のエネルギーに成り得ないということもよく判る。そこで島菌その他の研究によると、TPD、TOEDは血液の中に入って赤血球中でVB<sub>1</sub>となり、赤血球を出して各組織に行き働くという実験が挙げられているが、赤血球も細胞の一種であるから、勿論他の細胞でも起きる筈である<sup>7)</sup>。脳脊髄液直接投与ではその事実が最も明らかとなることは次の実験でよく示される。

(E) TPDとTOEDの実験<sup>9)10)</sup>

1) TPDの一定量を髄液投与しておいて、時間経過と共にVB<sub>1</sub>を追加し、痙攣を起すVB<sub>1</sub>の閾量から、TPDがVB<sub>1</sub>となって髄液内に出る量を推定する。この実験は時間経過を15分、30分、45分間隔にとったが、各時間毎に1匹の実験動物を用い、各濃度についても1匹を用いているので経過と共にVB<sub>1</sub>が重積した成績ではない。次に以上の方法によって得たTPDの髄液内の消長曲線を示すと第13表の如くである。

即ちTPD 0.1M 1cc注入と同時にVB<sub>1</sub> 0.1M 1ccを投与すればKKが発現することは勿論であるが、15分後には0.75M 1ccのVB<sub>1</sub>追加でKKを見たが、0.05M 1ccではKK発現せず、30分後では0.05M 1ccでKKを見て0.03M 1ccで発現せず、

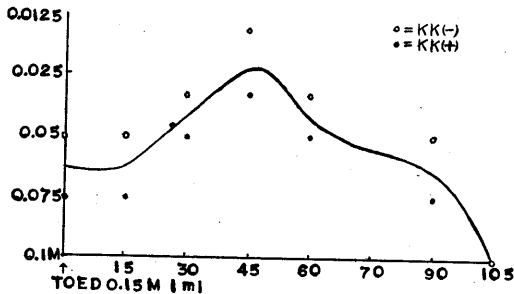
第13表



45分後にはわずか0.03M 1ccのVB<sub>1</sub>追加でKKを見、60分後では0.075M 1ccのVB<sub>1</sub>を追加投与しなければKKは発現しなかった。そこでTPDは投与後45分目で髄液内にVB<sub>1</sub>となって出る量が最高に達することがわかった。この研究はKKを標示として時間的にきざむことが出来るので経過をそのまま示しているとみれば、他の実験では細胞内での転移のはるかに小時間で足りるようであるが、少なくとも中枢神経では上記の時間を認めねばならぬ。

2) TOEDをTPD同様の方法で髄液内投与して、時間経過と共にVB<sub>1</sub>を追加し、痙攣を起すVB<sub>1</sub>の量より反対にTOEDがVB<sub>1</sub>となって髄液内に出る量を推定する。TPD同様の実験で得た髄液内のTOEDの消長曲線を示すと第14表の如くである。

第14表



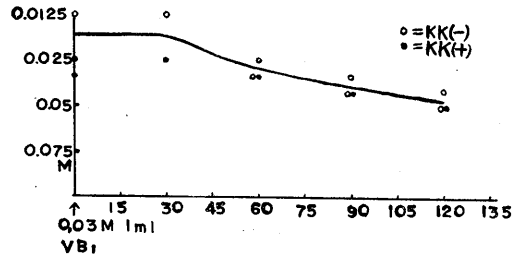
TPD同様TOED投与後45分後にVB<sub>1</sub>となって髄液内に出る量が最高となり90分を過ぎると急激に減少する。

以上の実験でTPD、TOEDが髄液より間液を経て一旦脳髄細胞のうちに入りVB<sub>1</sub>となって

から再び間液に現われたことを示す。と同時にTPD、TOEDから細胞内でVB<sub>1</sub>となるには一定の時間を要することがこの実験でわかった。

3) 髄液内投与したVB<sub>1</sub>が時間の経過と共に髄液内より消失して行く様子を一定時間毎にVB<sub>1</sub>を髄液内に投与追加して痙攣を起す追加VB<sub>1</sub>の量から推定した。第15表はこれを曲線で示したものである。

第15表



即ちVB<sub>1</sub>は髄液投与後30分間は変化しないがその後順次血液内に出て行き投与後2時間たてば、ほとんど髄液内にはとどまっていない。

#### IV. 総括的考察

林及びその学派は中枢神経系の Transmitter の内でInhibitory transmitterはすでにβ-hydroxy γ-aminobutyric acid (GABO) と同定<sup>3)</sup>したが、一方 Excitatory transmitter については GAB が母体となるであろうことを次の事柄より想像している<sup>4)5)</sup>。即ち(1)運動系筋細胞に直接投与する事によって GAB は或る濃度以上で興奮を起すこと。(2) GAB は上記閾値濃度以下で VB<sub>12</sub> と ATP いずれも単独若しくは相互では痙攣閾値以下のもの3つを加えれば痙攣を發動するから Excitatory transmitter は GAB のメチル化せられたものであると推定することが出来ることをあげている<sup>15)</sup>。

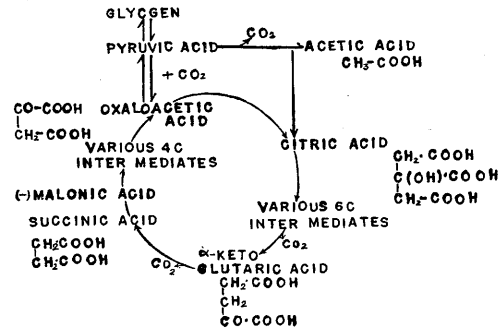
しからば GAB が ATP によってエネルギーを供与せられて興奮物質に変化するには常には生体内でいかなる物質を基質としてエネルギー供与を受けているであろうか。勿論直接には脳髄内に存在する ATP のエネルギーを利用するに違いないがそのエネルギー利用にはどうしても

他より ATP を生産して推進することが必要である。その際エネルギーを供与する機制ははたしてどうであろうか<sup>8)</sup>。

著者は従来脳髄生化学の知見から脳髄に入る動脈及びそれより出る静脈中のO<sub>2</sub>及びCO<sub>2</sub>の量を測定してそのRQを計算すると、ほぼ1.0に近いことから含水炭素エネルギーのみが脳髄に於いて利用されている根拠から考えれば上記実験のATPはVB<sub>1</sub>によって代理せられるに違いないと推論した。この立場から見るとすでにVB<sub>1</sub>は高濃度を髄液に注入して痙攣を起すという報告がある。そこで著者は第一に実験的にVB<sub>1</sub>痙攣の臨界濃度を決定し、もしも臨界濃度以下でありながらこれに基質となるべき物質を加える時には、はたして痙攣が起るかどうかを検しようとして、まず含水炭素分解過程において最も焦点をなす物質焦性ブドウ酸を試みた。その結果はVB<sub>1</sub>並びに焦性ブドウ酸いずれも痙攣臨界濃度はるかに以下でありながら、百発百中痙攣を起すことが明らかとなった。焦性ブドウ酸は含水炭素分解によって最後に生ずる物質であるが、このものがエネルギーを供給するには、所謂クレブスのクエン酸回路に入る。従ってVB<sub>1</sub>が働く部位は焦性ブドウ酸よりクエン酸回路に入る部位で働くか、或いはクエン酸回路内のいくつかの部分に入るかもしれないが、この焦性ブドウ酸+VB<sub>1</sub>痙攣はマロン酸で阻止出来ることは著者等が「髄液内投与による焦性ブドウ酸痙攣について<sup>11)</sup>」の論文中で証明しているがこのことは、これ等痙攣の経過がTCAサイクル内の化学変化によって起っていることを実証するものである。VB<sub>1</sub>が補酵素になる場合の体内に於ける型は、燐酸化の形であろうという推定も本実験のCO-carboxylase (TDP)の痙攣発動閾値がVB<sub>1</sub>に比較して約1/10~1/15であることから確実である。いずれにしてもVB<sub>1</sub>が脳脊髄内に於ける化学的伝達物質を生産するためにいかなる役割を演ずるかという問題に関しては、解答を与えることが出来る。即ちVB<sub>1</sub>はそれ等の過程の内エネルギー供与にあずかるという確答である。

一般的な含水炭素の代謝経路を簡単に表示すると次の如くである。

第16表



即ち痙攣が発動する場合には、含水炭素がその基質になり得ることがわかる。本実験では焦性ブドウ酸が、VB<sub>1</sub>及びその類物質を補酵素として基質になる場合を示した。

さてVB<sub>1</sub>類物質中 TPD, TOED が GAB と共に与えた場合、VB<sub>1</sub>の如き痙攣発動を見なかった事について一旦細胞内に入ってからでないことVB<sub>1</sub>となって働かないことを痙攣を標示として証明した。そして TPD, TOED 共体内に入ってから約45分後にVB<sub>1</sub>として排泄される量が最高に達することを知った。そしてその曲線とVB<sub>1</sub>の髄液内の消長曲線とを比較して、TPD, TOED 共に一旦血液中に入り再び髄液中にVB<sub>1</sub>となって現われたのでないことは閾値が一定時間後に上昇していることでわかった。

中枢神経に2つの過程、即ち興奮過程と抑制過程とがあり、これに対応する2つの物質、即ち興奮過程に対しては興奮伝達物質、抑制過程に対しては抑制伝達物質があるということは現在までに順次明らかになって来た。前者は補酵素としてはVB<sub>1</sub>とVB<sub>12</sub>とが最も関係の深いものであることを見ると、その物質が生産せられるためには常に相当のエネルギー供与が必要であるとみななければならない。これに反して抑制物質の方は、恐らくGABOBであることに間違いはないが、このものはVB<sub>6</sub>の存在によって容易に生産せられ<sup>4)5)</sup>、特にエネルギー供与を必要

としない様に見られる。或いはそれを必要とするにしても、極めて少ないエネルギーでたりると見られる。片桐等の研究によると痙攣即ち強い(+)の活動を標示とした研究ではVBの他のもの、VB類以外の水溶性ビタミンは、直接両物質の生産に不可欠のものはない。このことから考えると現在抑制物質は我等が手にあるが、興奮物質は単離することもまだ完全にはゆかない。いわんやその化学構造も未決定である。しかるに上述の理論からおすと興奮物質の作用の研究は間接にVB<sub>1</sub>及びその類物質を用いて行なうことが出来ると信ぜられる。例えばVB<sub>1</sub>を投与してKKが起きる時には、興奮伝達物質が豊富に生産せられていること、従ってVB<sub>1</sub>を用いて興奮伝達物質と同様に実験的研究を推進することが出来る。

## V. 結 論

- 1) GAB痙攣はVB<sub>1</sub>及びその類物質よりエネルギーを供与されておこる。
- 2) VB<sub>1</sub>類物質中TPD, TOEDは脳細胞内でもVB<sub>1</sub>に変化し得る。
- 3) VB<sub>1</sub>及びその類物質は髄液内投与により間代性痙攣を発動する。その過程に焦性ブドウ酸が基質として関与し、VB<sub>1</sub>痙攣は明らかにエネルギー供与によって、興奮物質の生産を促進することによって生じるものといえる。
- 4) 上記を総括すると、VB<sub>1</sub>及びその類物質はGABが興奮物質に変化する場合の補酵素である。

稿を終るにあたり終始御懇篤なる御指導御校閲を賜った恩師林謙教授に心から感謝いたしますと共に御鞭撻を頂いた加藤元一教授、富田恒男教授に衷心より謝意を表します。尚多大の御協力を下さった教室の方々に深く御礼を申し上げます。

## 文 献

- 1) Date, H. H. (1937) Transmission of nervous effects by acetylcholine. Harvey Lecture.
- 2) Elliott, K. A. C. and Florey, E. (1956) Assay and properties of an inhibitory factor from the brain. 20th International Physiological Congress at Bruxelles.
- 3) Hayashi, T. and Nagai, K. (1956) Action of  $\omega$  amino acids on the motor cortex of higher animals, especially  $\gamma$  amino- $\beta$  hydroxybutyric acid as the real inhibitory principle in the brain. Communication of the 20th International Physiological Congress at Bruxelles.
- 4) Hayashi, T. (1958) Inhibition and excitation due to gamma-aminobutyric acid in the central nervous system. *Nature*, **182**, 1076
- 5) Hayashi, T. (1959) Neurophysiology and Neurochemistry of convulsion. Dainihon-Tosho Co., Ltd. Tokyo, Japan.
- 6) Loew, O. (1921~26) Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. *Pflügers Arch.* (1921) **189**, 239; (1922) **193**, 201; (1924) **203**, 408; **204**, 361 (with Navratil); **206**, 123 and 135; (1926) **214**, 678
- 7) 松原和之 (1957) ビタミンB<sub>1</sub>の吸収機序に関する研究(II) ビタミンB<sub>1</sub>, アリチアミンおよびその同族体の腸管吸収について *ビタミン* **12**, 80
- 8) 真野 雄;  $\gamma$ -アミノ酪酸痙攣に於けるエネルギー供与に就いて (未発表)
- 9) Matsukawa, T., Yurgi, S. and Matuoka, T. (1953) Products of the Reaction between Thiamine and Ingredients of the plants Allium Genus: Detection of Allithiamine and Its Homologs. *Science* **118**, 325
- 10) Matsukawa, T. and Yurugi, S. (1953) On a New Derivative of Thiamine with Cysteine. *Science* **118**, 109
- 11) 中村耕之助・佐藤忠男・二村美美江; 髄液内投与による焦性ブドウ酸痙攣について (未発表)
- 12) 大城 蔚;  $\gamma$ -amino 酪酸痙攣の潜刺戟時に就いて (未発表)
- 13) Pavlov, I. P. 林 謙訳 (1938) 条件反射学 (大脳両半球の働きについての講義) 三省堂発行
- 14) Paton, W. D. M. (1958) Central and synaptic transmission in the nervous system. (Pharmacological aspects) *Annual Review of physiology* **20**, 431
- 15) 佐藤忠男 (1959)  $\gamma$ -amino 酪酸痙攣に対するATPの作用について *日本生理誌* **21**, 1222
- 16) Sherrington, C. S. (1906) *The Integrative Action of Nervous System*. Constable and Co. Ltd., London.
- 17) 富田勝郎・有田宗太郎 (1939) 大脳皮質刺戟の頻度と顛瀾様痙攣との関係 *条件反射* **1**, 45~51

1) Date, H. H. (1937) Transmission of nervous effects

### Summary

1) 1.0ml of a high concentrated  $\gamma$ -aminobutyric acid (GAB) introduced into c. s. f. of dogs sometimes produced a generalized seizure. The above convulsion was reliably produced when  $\gamma$ -amino butyric acid was combined by Vitamin B<sub>12</sub> and ATP. In this case Vitamin B<sub>1</sub> effected instead of ATP.

2) Moreover, Vitamin B<sub>1</sub> alone could produce seizure when it exceeded a certain concentration of Vitamin B<sub>1</sub> alone into c. s. f. and when its concentration was far below it produced seizure with pyruvic acid must be correlated with the convulsion as energy liberating substrata. Convulsion must be due to the excitatory transmitter which was produced with the energy liberated from pyruvate.

3) TDP (thiamine diphosphate, cocarboxylase) had the same effect as Vitamin B<sub>1</sub>, but TPD (thiamine propylsulfide) and TOED (thiamine  $\beta$ -hydroxy-ethylsulfide) did not produce seizure with or without pyruvic acid. On the contrary they produced seizure with GAB in its appropriate concentration.

4) Several minutes after the introduction of TPD or TOED, when a small amount of Vitamin B<sub>1</sub> was added, a seizure was occurred. From this fact, it could be known that TPD and TOED would be charged into Vitamin B<sub>1</sub> within ganglionic cells of cerebral tissues.

*(Department of Physiology, School of Medicine, Keio University)*

## 髄液内投与による焦性ブドウ酸痙攣のマロン酸による

阻止について 612.741.1 : [612.83 : 612.014.469]

Seizure due to Pyruvic Acid which was Introduced into Cerebrospinal Fluid of Dogs was Inhibited by Malonic Acid.

中村 耕之助・佐藤 忠男・二村 芙美江  
(NAKAMURA-Konosuke・SATO-Tadao・NIMURA-Fumie)\*

### I. 緒 論

中枢神経運動系については chemical transmitter として  $\gamma$ -aminobutyric acid (GAB) 及びその近似物質が注目されて来たが、林及びその学派は GAB が或る条件で excitatory chemical transmitter になって行くという根拠をあげている。しかるに一方に GAB は脳髄内で、inhibitory chemical transmitter としての  $\beta$ -hydroxy- $\gamma$ -aminobutyric acid (GABOB) を生ずるのであるから、このものは 2 つの transmitter の母体になるであろうことが、林及びその学派によってほぼ確実な事実として示めされた<sup>1)2)</sup>。

この場合 GAB が如何なる物質代謝の過程より energy 供与を受けて excitatory chemical transmitter に変化するか<sup>3)</sup>、その道程をつきとめる事が終極的興奮伝達物質を発見する 1 つの方法でもある。

二村は「ビタミン B<sub>1</sub> 及びその類物質の髄液内投与痙攣の機制について<sup>4)</sup>」の論文の〔I〕に於いて焦性ブドウ酸がその基質となることは確実であり、その際ビタミン B<sub>1</sub> が補酵素として働くことを証明している。そこで私共は GAB への energy 供与が焦性ブドウ酸を経るのは筋その他で起きていると同様の過程、即ちクレブスの TCA サイクルによるものであるかどうかを検査するために次の実験を試みた。

### II. 実験方法

動物は雑種成犬で体重 10kg 前後のものを

\* 慶応義塾大学医学部生理学教室 (林謙教授)  
(昭和34年8月14日受付)

い室温は 20°C~27°C の間を保持した。犬は当教室の方法<sup>5)</sup> に従って腹位に固定し、1.0%プロカイン 5~10cc にて皮下麻酔し、頭頂部正中線上に約 5cm の皮膚切開をし、側頭筋を剥離し、両耳介前縁を結ぶ線上で正中線より 0.5~0.7cm 外側の部位の頭頂骨に小孔を開け、これより側脳室に有鏢外套針を穿刺し髄液の自然流出を確かめた後に目的の物質を水溶液として投与した。頭頂骨表面より側脳室に至る平均距離は、2.2cm である。実験の標示は、間代性痙攣 (Klonische Krampf 以下 KK と略す) のみとし物質投与の後に現われる興奮現象や Tremor 等のあいまいな現象は除外した。

### III. 実験成績

二村の焦性ブドウ酸及び焦性ブドウ酸+ビタミン B<sub>1</sub> 痙攣についての実験によると<sup>4)</sup> 焦性ブドウ酸の痙攣臨界濃度は 0.2M~0.4M 1.0ml であり焦性ブドウ酸+VB<sub>1</sub> 痙攣は 0.02M 1.0ml+0.04M 1.0ml で最も高率に発現している。そこで上記二物質による痙攣がマロン酸によってどのように変化するかを実験観察した。なおマロン酸はクレブスの TCA サイクルを切る働きがある。実験経過を示すと第 1 表の様である。

即ち潜時 8 分 45 秒で全身 KK を発現した同量の焦性ブドウ酸と VB<sub>1</sub> を 1 時間後にマロン酸 0.04M 1.0ml と共に与えた所 KK を発現しないばかりでなく、30 分後に第 3 回目の焦性ブドウ酸+VB<sub>1</sub> の同量の投与に対しても反応はみられず、マロン酸が明らかに焦性ブドウ酸+VB<sub>1</sub> 痙攣を阻止したものである。以下同じ投与方法によって各濃度をたしかめた成績を第 2 表に示す。

第1表

5月14日 室温 23°C 10kg ♂

11'30''	執刀
12' 1'30''	Pyruvic acid 0.04M 1.0ml VB <sub>1</sub> 0.04M 1.0ml } 注入
	直後静か
10'15''	全身KK発現 潜時 8分45秒
11'30''	KK+LK
40''	全身KK止む
20'	流睡増加
1° 0' 0''	KK再び現れず
1° 6'10''	malonic acid 0.04M 1.0ml Pyruvic acid 0.04M 1.0ml VB <sub>1</sub> 0.04M 1.0ml の順に注入する。静か泣かず
38' 0''	30分経過するもKK起きず
40' 0''	Pyruvic acid 0.04M 1.0ml VB <sub>1</sub> 0.04M 1.0ml の順に注入する
43'40''	あばれ
45'	tremor 起きる
45''	tremor やむ
48'	排便
59'	KKは起きない

第2表よりその結果を考察的に観察すると、

(1)焦性ブドウ酸+VB<sub>1</sub> が 0.02M 1.0ml+0.04M 1.0mlの場合にはマロン酸, 0.01M 1.0mlでは痙攣阻止閾値とならず, 0.02M 1.0mlで阻止し得る。(2)焦性ブドウ酸+VB<sub>1</sub> が 0.04M 1.0ml+0.04M 1.0mlの場合にはマロン酸0.02M 1.0mlは痙攣阻止閾値とならず0.04M 1.0mlで阻止し得る。(3)第1例より第4例まで, 第1回投与より第2回投与までの時間を約1時間とった。第5

例は30分とったが, 痙攣は阻止出来た。第6例は7分後に投与してみたが, 第1回の焦性ブドウ酸とVB<sub>1</sub>の影響が加算され, 0.04M 0.1mlのマロン酸では阻止出来なかった例である。即ち30分から1時間の時間間隔を第1回から第2回までの間におかないと前回投与物質の影響で次の成績判定が困難となる。この事は, 二村がVB<sub>1</sub>の髄液内消長曲線の実験で見ている如く<sup>4)</sup>1時間を経過しないと前回量の影響が残るとみてよい。

#### IV. 結 論

焦性ブドウ酸とVB<sub>1</sub>によって生ずる痙攣はマロン酸によって阻止出来る。故に焦性ブドウ酸が energy 供与の基質として働く場合はTCAサイクルを経て分解されることはたしかで, この際VB<sub>1</sub>が補酵素として働くこともまた確実である。

擲筆するに当って終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った本学生理教室主任林謙教授に対して深甚なる感謝の意を表する。

#### 文 献

- 1) Hayashi, T. (1958) Inhibition and excitation du to gamma-aminobutyric acid in the central nervous system. Nature **182**, 1076

第2表

Substances	1 te Dosage	Seizure	Latent periode	2 te Dosage	Seizure	Latent periode
1. Pyruvic acid VB <sub>1</sub> malonic acid	0.02M 1ml 0.04M 1ml (-)	(+)	1875sec	0.02M 1.0ml 0.04M 1.0ml 0.01M 1.0ml	(+)	510sec
2. Pyruvic acid VB <sub>1</sub> malonic acid	0.02M 1ml 0.04M 1ml (-)	(+)	540sec	0.02M 1.0ml 0.04M 1.0ml 0.02M 1.0ml	(-)	
3. Pyruvic acid VB <sub>1</sub> malonic acid	0.04M 1ml 0.04M 1ml (-)	(+)	420sec	0.04M 1.0ml 0.04M 1.0ml 0.02M 1.0ml	(+)	390sec
4. Pyruvic acid VB <sub>1</sub> malonic acid	0.04M 1ml 0.04M 1ml (-)	(+)	255sec	0.04M 1.0ml 0.04M 1.0ml 0.04M 1.0ml	(-)	
5. Pyruvic acid VB <sub>1</sub> malonic acid	0.04M 1ml 0.04M 1ml (-)	(+)	525sec	0.04M 1.0ml 0.04M 1.0ml 0.04M 1.0ml	(-)	
6. Pyruvic acid VB <sub>1</sub> malonic acid	0.04M 1ml 0.04M 1ml (-)	(+)	455sec	0.04M 1.0ml 0.04M 1.0ml 0.04M 1.0ml	(+)	380sec

- 2) Hayashi, T. (1958) Neurophysiology and Neurochemistry of convulsion. Dainihon-Tosho Co., Ltd. Tokyo. Japan.
- 3) 真野 雄;  $\gamma$ -アミノ酪酸痙攣に於けるエネルギー供与に就いて (未発表)
- 4) 二村美美江 (1959) ビタミン B<sub>1</sub> 及びその類物質の髄液内投与痙攣の機制に就いて 日本生理誌 **21**, 1210
- 5) 富田勝郎・有田宗太郎 (1939) 大脳皮質刺戟の頻度と痙攣様痙攣との関係 条件反射 **1**, 45~51

### Summary

When Vitamin B<sub>1</sub> with pyruvic acid was introduced into ventricles of dogs, the generalized seizure was produced. It was presumed that the energy which was liberated by pyruvic acid was used to generate some excitatory substance in the brain. The above energy liberation would be evolved through citric acid cycle, which was determined by the authors by the experiments that pyruvic acid with Vitamin B<sub>1</sub> could not produce a seizure when a small dose of malonic acid was added.

*(Department of Physiology, School of Medicine, Keio University)*

$\gamma$ -アミノ酪酸痙攣に対する ATP の作用に就いて 612. 741. 1: 612. 014. 469

The Convulsive Effect of A. T. P. which was Introduced into  
c. f. f. of Dogs with Aminobutyric Acid.

佐藤 忠 男 (SATO-Tadao)\*

I. 緒 論

$\gamma$ -アミノ酪酸は Canada の Elliott, Florey が高等動物の脳から抽出して、これを Cray-Fisch (ザリガニ) の stretch-receptor で検べて抑制作用のある物質をペーパークロマトグラフで分けて、その一成分が  $\gamma$ -アミノ酪酸である事を発見して1956年に 20th International Physiological Congress で発表した<sup>1)</sup>。林、永井等は塩縮の研究から中枢神経に対する強い抑制作用ある物質を研究しているうちに、電氣的及び化学的刺戟によって起こる間代性痙攣及びその他の痙攣を極めて最も強く抑制するものとして  $\gamma$ -アミノ  $\beta$ -hydroxy 酪酸に到達し同じ学会に同時に発表している<sup>2)3)</sup>。

このような Canada と日本との意見の相違に、関し林等はその主張を固執している理由は次の様な事からである。即ち、

1) 中枢神経の抑制物質を stretch receptor によって決定するのは不満足である事。

2) 抑制物質として  $\gamma$ -アミノ酪酸は  $\gamma$ -アミノ  $\beta$ -hydroxy 酪酸よりも遙かに痙攣抑制の力が弱い事。

3) 最も重要な事は  $\gamma$ -アミノ酪酸は時としてかえって興奮発生作用をもつに反して  $\gamma$ -アミノ  $\beta$ -hydroxy 酪酸は殆んどその力を持たない。の3点であった。林等の弱点とするところは  $\gamma$ -アミノ酪酸は高等動物脳髄内に存在する事が証明されているに拘らず、 $\gamma$ -アミノ  $\beta$ -hydroxy 酪酸の存在は、益山による間接の証明があるのみであった<sup>4)</sup>。但しこの点は永田が Ratt の脳髄内に凡そ  $\gamma$ -アミノ  $\beta$ -hydroxy 酪酸は  $\gamma$ -アミノ酪酸

の 1/4, Serine の 3/2 倍存在する事を証明した<sup>5)</sup>。

かくの如き試みを迎り来って、今や  $\gamma$ -アミノ酪酸痙攣の発生について研究する必要にせまられた。即ち  $\gamma$ -アミノ酪酸は抑制物質  $\gamma$ -アミノ  $\beta$ -hydroxy 酪酸の母体であると同時に未だ発見されていない興奮物質の母体であるかもしれないという考え方が生ずる。著者はこの問題を検討しようとして次の如く実験を試みた。即ち、

1) 適当濃度の  $\gamma$ -アミノ酪酸を脳髄液に投与すると痙攣が発生し、その潜刺戟時を大城が集計報告しているが<sup>6)</sup>、その再試が必要である。

2) 然らば  $\gamma$ -アミノ酪酸痙攣が百発百中起こるには如何なる条件が必要か。

恐らく  $\gamma$ -アミノ酪酸を基質として脊髄液内に存在する或る酵素が働き(その酵素は興奮物質が発見されれば決る)何等かの補酵素が作用しているとみるならば、水野が諸種水溶性ビタミンの痙攣作用を研究し、VB<sub>1</sub>と葉酸とが強い痙攣作用のあるのをみている事<sup>7)</sup>から考えて、凡らくこの2つが補酵素として働く酵素系があるだろうと予想される。

II. 実験方法

$\gamma$ -アミノ酪酸を用いて脳髄に対する刺戟作用または抑制作用を研究するには、凡そすべての痙攣剤に関して用いられる次の如き3方法がある。

1) 直接大脳皮質運動領域に適当濃度の物質を注入する方法。

2) 頸動脈より迅速注入投与する方法。

3) 脳脊髄液中に投与する方法。

で、例えば側脳室或いは小脳延髄槽等に投与すると、これは血液に移行するより遙かに脳髄実

\* 慶応義塾大学医学部生理学教室(林 謙教授)

[昭和34年8月14日受付]

質内に透過する事が明らかになっているが<sup>8)9)</sup>, 著者は側脳室に投与する方法を用いた. 痙攣判定の方法であるが, それは左右同時にリズムある運動を生じた場合には間代性痙攣 (K・K), 左右交互に反復運動を起した場合には交代性痙攣 (L・K), 更に強縮性痙攣 (T・K) を別に一型態とする 3 分類に記載出来る. 本研究では主として K・K を標示として研究を行なった.

実験に使用した動物は雌雄を問わず体重 8kg 前後の雑種成犬で, 麻酔を施さずに当教室の方法<sup>10)</sup>に従って腹位に固定し側頭部を開頭し髄膜上より Fissura entolateralis の線上で Fissura suprasylvia media と Fissura suprasylvia anterior の移行部と直角に交る点を見つけ, これより静かに後頭穿刺用の有鍔外套針を正中に平行か, 稍正中に向け約 2.2cm 刺入する. 刺入後髄液を自然に流出させ側脳室穿刺の適正を確認し, 各試薬を 10 秒間隔で投与し, 30分~1 時間観察を続けた. 而して室温は常に 20°C 以上に保つ様にし, 頭部は体温に暖めた Ringer 氏液により温度下降と乾燥を防いだ.

### III. 実験成績

$\gamma$ -アミノ酪酸を単独側脳室内注入例は前に述べた如く大城が集計報告しているが<sup>6)</sup>, 著者は前節で述べた方法に従って再試したところ, 逸見の述べている<sup>11)</sup>如く $\gamma$ -アミノ酪酸は或る場合

第 1 表

$\gamma$ -アミノ酪酸	実験例数	痙攣	潜時
0.1mol	2/2	(+)	19' 30''
0.2mol	1/7	(+)	2' 15''

分母は実験数, 分子は痙攣の発現数で, 従って分数は痙攣の発現率を示す.

♀ 10kg 室温 23°C

3' 15'	執刀
30'	左側脳室穿刺
35' 10''	$\gamma$ -アミノ酪酸 0.1mol 注入
37' 30''	散瞳
40'	流唾増加
41' 30''	散瞳著明
54' 40''	全身 K. K (+), (L. P 19' 30'')
50''	全身 K. K (-)

には痙攣作用を又或る場合には抑制作用を, 起こすという成績は首肯される (第 1 表).

この問題については多数の実験例が,  $\gamma$ -アミノ酪酸が痙攣を起こす場合,

1) 常に起るのではなく或る条件が満たされる時に起る.

2) 潜刺激は長く直接痙攣ではない.

既に諸家の論じている様に脳髄直接投与に依って起るメトラゾル, グルタミン酸 Na, その他については 5 秒乃至 30 秒の潜時で起る一群の痙攣物質がある<sup>15)</sup>. これに対して他の一群は INAH, VB<sub>1</sub> 及びここに述べる $\gamma$ -アミノ酪酸の如く数分乃至数十分の潜時で始めて起る<sup>13)14)</sup>. 前者は直接その化学構造より運動系節細胞を刺戟するから直接痙攣剤と呼ぶが, 後者は投与後痙攣催起物質に変化して起すか, さもなくば予想される中枢神経興奮物質 (central extatory transmitter) の発生を促す事に依り痙攣を起すか, 或いは全く同様に中枢神経抑制物質 (central inhibitory transmitter) の発生を突如として停止せしめ, 従って興奮物質の集積が起り, 依って痙攣を起させるとみられるが間接痙攣興奮剤と呼ぶべきである. この分類に従えば $\gamma$ -アミノ酪酸は間接痙攣剤と判断しなければならない. では如何なる機制で痙攣を起こすかという点, VB<sub>1</sub>, 葉酸等の如きものが同じ間接痙攣剤とみられる事から, まず次の如き考えが浮ぶ. 即ち $\gamma$ -アミノ酪酸を中枢興奮物質の基質として考えるべきである. さて一度そう考えると $\gamma$ -アミノ酪酸が分解するのか合成によって他の物質になるのかが考えられる. 分解と考えるならば,  $\beta$ -アラニン, エタノール, アミン, 及び分解合成が伴えばコリン等があるが, 合成ではアセチル化, メチル化或いはスルフハイドリル化等の方向, 或いはメチル化が更に進行する事によりベタイン化をとるか或いはそれ等のエステルを考えねばならぬ. この様な考えからまず最初に著者の取上げたのは, 葉酸が痙攣を起こす事から $\gamma$ -アミノ酪酸のメチル化が進んでいくものと思った. 幸いにして葉酸の働きと同じ VB<sub>12</sub> で試みる事により第 1 歩をふみ出す事が出来た.

第2表

$\gamma$ -アミノ酪酸 (mol)	VB <sub>12</sub> (mol)	実験数	痙攣
2.0 <sup>-3</sup>	1.7 <sup>-5</sup>	0/2	(-)
2.0 <sup>-3</sup>	3.4 <sup>-5</sup>	0/2	(-)
2.0 <sup>-3</sup>	3.4 <sup>-4</sup>	0/2	(-)

上記実験の結果より  $\gamma$ -アミノ酪酸+VB<sub>12</sub> では痙攣が起きないので、この反応にはエネルギー供与が必要として ATP を前記2者に加えて実験を試みた (第3表)。又その1実験例を第4表に示す。

第3表

$\gamma$ -アミノ酪酸 (mol)	VB <sub>12</sub> (mol)	ATP (mol)	痙攣	実験例数	潜時 (秒)
2.0 <sup>-3</sup>	5.1 <sup>-6</sup>	4.0 <sup>-4</sup>	(+)	2/2	65~390
2.0 <sup>-3</sup>	3.4 <sup>-6</sup>	4.0 <sup>-3</sup>	(+)	1/1	20
2.0 <sup>-3</sup>	1.7 <sup>-6</sup>	4.0 <sup>-4</sup>	(+)	2/2	60~70
2.0 <sup>-3</sup>	3.4 <sup>-7</sup>	8.0 <sup>-5</sup>	(+)	1/1	30
2.0 <sup>-3</sup>	1.7 <sup>-9</sup>	4.0 <sup>-5</sup>	(+)	2/8	40~275

第4表

♂ 10kg 室温 20°C

4° 30'	執刀		
47'	左側脳室穿針		
48' 40''	$\gamma$ -アミノ酪酸	2.0 <sup>-3</sup> mol 1cc	} 注入
50''	VB <sub>12</sub>	1.7 <sup>-9</sup> mol 1cc	
49'	ATP	4.0 <sup>-4</sup> mol 1cc	
52' 30''	四肢 Tumor	流唾増加	
53' 10''	四肢 T. K.	散腫	
35''	全身 K. K (+)	nystangus (+)	
	(L. P. 4' 35'')		
54' 05''	顔面 K. K	特に激しい	
25''	全身 K. K (-)	nystangus (-)	
55' 40''	四肢 T. K	縮腫	
59'	自発運動	激しい	
5° 19'	呼吸深大	自発運動なし	

以上の実験から得られる結論は次のごとくである。

1)  $\gamma$ -アミノ酪酸, VB<sub>12</sub>, ATP は共に単独注入では痙攣は起こし得ぬ濃度及び量で、この時注意すべきは痙攣を起こす場合必ず潜刺激時間が長いという点である。この点については考察にて論ずる。

2) この時に使用した ATP は Na 塩を用いたので、2, 3の研究者が曾て中枢神経の興奮物質は ATP であると報告した者がいるが、著者の研究では、それが Na 塩であった事に起因す

る事があり、一定濃度があれば焦性磷酸でも痙攣が起こる。第5表はこれを示す。

第5表

	濃度 (mol)	痙攣	実験例数
ATP (Na)	0.04	(+)	1/6
	0.02	(-)	0/3
ピロ磷酸 (Na)	0.05	(+)	4/5
	5.0 <sup>-4</sup>	(-)	0/1

3) 補酵素として VB<sub>12</sub> が働いている事を考えると、メチル化が何れかの点に於いて興奮物質生成に関与している事を確認出来る。

4) メチル化に用いられるメチール供給物質は何かという点であるが、従来の生化学的実験からみると次の3つの物質が関与しているのではないかと推定される。即ちメチオン、コリン、ベタインの3者である。そこでこれ等の物質を少量加えて上記諸条件に依る痙攣発生が遙かに閾濃度以下で痙攣を起こし得るかどうかを決定すればよい。そこで最初にメチオンについて試みる事にした。即ちメチオン単独注入及び $\gamma$ -アミノ酪酸とメチオン、次で $\gamma$ -アミノ酪酸、メチオン、ATP と3者混合注入してみたところ次の如き実験成績を得た (第6, 7, 8表)。

第6表

D. L. methionin (mol)	痙攣	実験例数
1.0	(-)	0/2
2.0	(-)	0/3
2.5	(-)	0/2

第7表

$\gamma$ -アミノ酪酸 (mol)	D. L. methionin (mol)	痙攣	実験例数
2.0 <sup>-3</sup>	0.12	(-)	0/2
2.0 <sup>-3</sup>	0.25	(-)	0/2
2.0 <sup>-2</sup>	0.12	(-)	0/5
2.0 <sup>-2</sup>	0.25	(-)	0/1

第8表

$\gamma$ -アミノ酪酸 (mol)	D. L. methionin (mol)	ATP (mol)	痙攣	実験例数
2.0 <sup>-3</sup>	1.2 <sup>-4</sup>	4.0 <sup>-4</sup>	(-)	0/1
2.0 <sup>-3</sup>	1.2 <sup>-3</sup>	4.0 <sup>-4</sup>	(-)	0/2
2.0 <sup>-3</sup>	1.2 <sup>-2</sup>	4.0 <sup>-4</sup>	(-)	0/2
2.0 <sup>-3</sup>	1.2 <sup>-3</sup>	4.0 <sup>-3</sup>	(+)	1/6
2.0 <sup>-3</sup>	1.2 <sup>-2</sup>	4.0 <sup>-3</sup>	(-)	L.P. 595' 0/2

即ちいつでも痙攣は起こらない。

上記の如く D. L. methionin については何等の痙攣作用を示さないが、塩化コリンについて実験を試みてみると次の如く痙攣を生ずる (第9表)。

第9表

$\gamma$ -アミノ酪酸 (mol)	塩化コリン (mol)	痙攣	実験例数	潜時 (秒)
$2.0^{-3}$	$5.6^{-3}$	(+)	1/2	50
$2.0^{-3}$	$2.8^{-3}$	(+)	2/4	103
$2.0^{-3}$	$1.4^{-3}$	(+)	2/3	85
$2.0^{-3}$	$1.4^{-4}$	(-)	0/2	
$1.0^{-3}$	$2.8^{-3}$	(-)	0/1	

上記の実験よりメチル供与はコリンである事が解った。

近時メチオニンはそのままメチル化せられず ATP によって賦活される必要があると述べる生理学者もいる。そこでこの塩化コリンの微量濃度に閾量以下の $\gamma$ -アミノ酪酸及び ATP を少量加えて注入したところ、前に実験を試みた場合と同様に著明なる痙攣を起こした (第10表)。又その実験例の1例をしめしたのが第11表である。

第10表

$\gamma$ -アミノ酪酸 (mol)	塩化コリン (mol)	ATP (mol)	痙攣	実験例数	潜時 (秒)
$2.0^{-3}$	$1.4^{-5}$	$4.0^{-4}$	(+)	1/1	85
$2.0^{-3}$	$1.4^{-5}$	$4.0^{-5}$	(+)	1/5	160
$2.0^{-3}$	$1.4^{-5}$	$4.0^{-6}$	(-)	0/2	

第11表

♀ 10kg 室温 25°C

2' 56'	執刀			
3' 24'	左側脳室穿針			
25'	$\gamma$ -アミノ酪酸 $2.0^{-3}$ mol 1cc	} 注入		
10''	塩化コリン $1.4^{-5}$ mol 1cc			
20''	ATP $4.0^{-5}$ mol 1cc			
26' 50''	nystangus (+)			
27' 40''	全身 K. K (-) 散腫 (L. P. 2' 40'')			
28' 50''	四肢 K. K (-) 顔面 K. K 残る			
29' 20''	顔面 K. K (-) 呼吸深大			
32' 10''	nystangus (-)			
50''	呼吸時々激しくなる			
55'	呼吸深大 自発運動なし			

上記の実験に於いて $\gamma$ -アミノ酪酸の濃度を一定にし ATP の濃度を稀釈してゆくと痙攣は起

りにくくなってくるし、又  $VB_{12}$  や塩化コリンの濃度を下げてもやはり痙攣は起こりにくくなって来る。

又既に述べた如く ATP の Na 塩でも起こるがピロリン酸の Na 塩でも起こる。然しこのピロリン酸を ATP の代りに $\gamma$ -アミノ酪酸と  $VB_{12}$ 、塩化コリンと共に注入したところ次の第12表に示す如く何等の痙攣も起こらぬ。

第12表

$\gamma$ -アミノ酪酸 (mol)	$VB_{12}$ (mol)	塩化コリン (mol)	ピロリン酸 (mol)	痙攣	実験例数
$2.0^{-3}$	$1.7^{-3}$		$5.0^{-4}$	(-)	0/1
$2.0^{-3}$	$1.7^{-5}$		$5.0^{-4}$	(-)	0/3
$2.0^{-3}$		$1.4^{-4}$	$5.0^{-4}$	(-)	0/4

#### IV. 実験考察

以上の実験を総括すると $\gamma$ -アミノ酪酸は特有の痙攣抑制作用があるが、痙攣を起こしていない場合に単独投与すると二様の成績即ち痙攣を起こす時と起こさない時がある。この事から $\gamma$ -アミノ酪酸が中枢興奮物質の母物質ではないかという考えが起こって種々の実験を試みた所が  $VB_{12}$  を補酵素として ATP に依って押すと明らかに数分のうちに興奮性伝達物質となる事が解った。

$VB_{12}$  は特有な性質を生体に対して持っているが、この種の化学反応では有機物質の窒素にメチル化を起こさしめる働きを持っている事も既に生化学者の間に解っている事<sup>12)</sup>から考えると、予想される興奮伝達物質は $\gamma$ -アミノ酪酸のメチル化せられたものと考えられる。この点についても Guggenheim が $\gamma$ -アミノ酪酸の十分にメチル化を受けた物質は小動物に対して痙攣を起こさせると記載している。この点についてはその物質の化学構造が将来明らかにされるのを待つより外ない。ではこの際メチル基を供与する物質は何であろうか。脳髄内に存在してメチル基の供与体となるものはメチオニン、コリン、ベタインであるが余はメチオニンより験してみた。然るにメチオニンは何等の作用をも持たぬ。次で塩化コリンを用い験したところ明

らかに ATP 推進に依り痙攣を起こしてくる。かくの如くして更に痙攣性伝達物質を生産する機構を考えてみると、

1)  $\gamma$ -アミノ酪酸+ATP では痙攣は起きない。但し ATP の濃度が高く磷酸の性質をおびてくると、焦性磷酸として痙攣を起こしてくるのでその区別はこの場合潜刺激時が短かいと云う事にある。

2) 次に $\gamma$ -アミノ酪酸+VB<sub>12</sub> では痙攣は起こらないが、この事は物質生産に当って補酵素の存在は他の因子の存在に比して弱いという事からよく解る。これに反して $\gamma$ -アミノ酪酸+塩化コリンでは KK が起こってくる。即ちメチル化はコリンによって推進される。

3) では生じてくるこの興奮物質は何か、それは $\gamma$ -アミノ酪酸のメチル化せられたものの誘導体でいずれつきとめられる日がくると確信する。

## V. 結 論

1) 犬の側脳室に適当な $\gamma$ -アミノ酪酸の濃度を投与すると或る場合には典型的な痙攣を起こしてくる。この際潜刺激時は十数分要する事は $\gamma$ -アミノ酪酸が何かに変化したか、さもなければ興奮物質生成の為に何かの理由で関与しているとみられる。

2)  $\gamma$ -アミノ酪酸+VB<sub>12</sub>+ATP で各々の閾下濃度であるにかかわらず痙攣は起こる。この事は脳髄に於いて $\gamma$ -アミノ酪酸が VB<sub>12</sub> とこれを推進するエネルギーの存在に依って興奮伝達物質に変化すると考えられる根拠である。その機制は VB<sub>12</sub> から推測して $\gamma$ -アミノ酪酸のメチル化であると想像される。

3) メチル化が起こる為にはメチル基供与物

質が存在する筈で著者はメチオニン、塩化コリンで試みたがメチオニンでは起こらず、塩化コリンでは痙攣が起こるから、この際塩化コリンの反応がメチル供与体であると推定できる。

擧筆するに当り終始御懇篤なる御指導御校閲を賜った恩師林巖教授に深甚なる謝意を表すると共に、御鞭撻を賜った加藤元一教授、富田恒男教授に衷心より感謝の意を表す。尚多大の御協力を下さった教室員の方々に深く御礼を申し上げる。  
本論文の要旨は第35回日本生理学学会(昭和33年5月於金沢)に於て発表した。

## 文 献

- 1) Elliott, K. A. C. and Florey, E. (Montreal, Canada) (1956) Assay and properties of an inhibitory factor from brain (20th international physiological congress, abstracts of communications), (Journal Neuro-chemical)
- 2) Hayashi, T. and Nagai, K. (1956) Action of  $\omega$ -amino-acids on the motor cortex of heigher animals, especially  $\gamma$ -amino  $\beta$ -hydroxy butyric acid as the real inhibitory principle in brain. (20th international physiological congress, abstracts of communications)
- 3) Hayashi, T. and Suhara, R. (1956) Substances produce epileptic seizure when applied on the motor cortex of dogs and substences which inhibit the seizure directly (20th international physiological congress, abstracts of communications)
- 4) 益山純夫: 塩発外液に対する塩発抑制物質(日本生理誌に発表の予定)
- 5) 永田 豊; 白ネズミ脳髄内の遊離 $\gamma$ -アミノ酸の定量に就いて(慶応医学に発表の予定)
- 6) 大城 勲;  $\gamma$ -アミノ酪酸痙攣の潜刺激時に就いて(日本生理誌に発表の予定)
- 7) 水野英利; Vitamine B群の中樞運動系に対する作用(日本生理誌に発表の予定)
- 8) 横山泰和; 犬及び其他の哺乳動物の脳腔系の実験生理学的研究(日本生理誌に発表の予定)
- 9) 渡辺 昭; 化学的刺戟に依る脊髓運動系の研究(日本生理誌に発表の予定)
- 10) 須田 勇(1942) 皮質性癲癇痙攣の皮質下連鎖条件反射 4
- 11) 逸見一郎;  $\omega$ -アミノ酪酸の中樞神経運動系に対する実験生理学的研究(慶応医学に発表の予定)
- 12) 生物化学最近の進歩(技報堂) 生物化学最近の進歩編集委員会編
- 13) 原 正中・片桐 武・田中 茂; I.N.A.H 痙攣とVB<sub>6</sub>の關係(慶応医学に発表の予定)
- 14) 二村英美江(1959) ビタミン B<sub>1</sub> 及びその類物質の髄液内投与痙攣の機制について 日本生理誌 20, 1210
- 15) 林 巖; 脳髄の機能代謝とグルタミン酸代謝 医学のあゆみ別集 IV. 物質代謝 2

## Summary

1) When a certain dose of  $\gamma$ -aminobutyric acid was introduced into the lateral ventricle of dogs, sometimes a typical convulsion occurred with several minutes of the latency. It suggested that  $\gamma$ -aminobutyric acid might be changed into some substance which had convulsive action.

2) When the  $\gamma$ -aminobutyric acid, Vitamine B and adenosine-tri-phosphate (ATP) were introduced into the cerebrospinal fluid, the convulsion was in all cases occurred. It suggested that  $\gamma$ -amino butyric acid might be metylated by the aid of energy into some excitatory transmitter substance.

3) In case of the above metylation metyldonor was not methionine but cholinechloride.  
(Department of Physiology, School of Medicine, Keio University).

## グリセロール抽出筋原線維における ATP 加水分解酵素, ミオキナーゼ及び

### AMP 脱アミノ酵素活性と力学効果との関連について 612.744.14:612.015.1

Studies on the Activity of ATPase, Myokinase and AMPdeaminase  
in the Glycerol Treated Fibers of Rabbit Psoas Muscle: Its  
Relations to the Mechanical Changes of the Fibers.

舛 沢 郁 二 (MASUZAWA-Ikuji)\*

#### I. 緒 論

筋肉の示す基本的機能である収縮の基礎的、分子論的段階の研究は、高エネルギー物質アデノシン三リン酸 (ATP) が筋肉の構造蛋白質であるアクトミオシンによって分解される事が発見されて<sup>1)</sup>より、急速な発展をとげ、構造蛋白質の諸性質について精細な研究が行なわれている。

それに基いて、筋肉収縮の基礎をなす構造蛋白質の収縮過程、弛緩過程を説明すべく種々の仮説が述べられている<sup>2)~22)</sup>。しかし、これ等は、主として構造蛋白質と ATP との関連に於ける実験成績に基いているのであって、その結果「ATP とアクトミオシン系との関連が筋肉収縮に於いて一義的な地位を占める事」は疑うを得ないものとされている。

一方、筋肉の収縮に際してアンモニアの発生を見る事は、既に古くから報告されている。その後 Parnas<sup>23)~26)</sup>等は、1) アンモニア発生が筋肉の収縮時に多量に見られる事、2) 特に諸動物の骨格筋に於いて特徴的である事、3) その基質は 5-アデニール酸 (AMP) であり、AMP deaminase による脱アミノ作用により発生して

来る事等を報告している。更に近年になって、アクトミオシンが ATP 加水分解酵素 (ATPase) 作用を示す外に、myokinase, AMP deaminase がアクトミオシンと比較的強固に結合していることが知られた。Engelhardt<sup>27)</sup>等はこれ等の「ATP ase, myokinase, AMP deaminase が一連の反応系を形成する」ことを予見し、所謂「adenylic acid cycle」の存在を示唆した。Engelhardtはこの adenylic acid cycle が再リン酸化及び再アミノ化過程と結びついて TCA cycle と密接な関連を有するのではないかと述べている。

我々は、これらの酵素系の化学過程が筋肉の収縮弛緩の基礎的過程と何らかの関連を有するのではないかと考え、一連の実験を行なってきた<sup>28)29)</sup>。

本論文は adenylic acid cycle の化学過程と筋モデル (グリセロール処理筋) の示す力学効果との関連を追求しようと試みたものである。

#### II. 実験方法

##### 1) グリセロール処理筋の製法

家兎の両側頸動脈を切斷、充分に冴血し、内臓を除去する。0°C の氷室内で、露出した腰筋を直径 1mm 位の筋線維束に分離し、細いガラス棒に固定し、切り出す。これを冷却した50%グリセロール水に浸す。グリセロール抽出を充分にするため、24時間毎に液を換え、48~64時間抽出処理する。これを -15°C に3日以上保存する。使用に当っては、0°C の氷室で 160mM KCl 溶液に浸し、長さ約3cm、直径0.1~0.2mm に細分し、3時間以上放置して充分にグリセロ

#### 脚註:

ATP: アデノシン三リン酸

ADP: アデノシン二リン酸

AMP: 5-アデニール酸

ATPase: アデノシン三リン酸加水分解酵素

AMP deaminase: 5-アデニール酸脱アミノ酵素

EDTA: エチレンジアミン, テトラアセテックアシッド

\* 慶応大学医学部生理学教室; 現在 慶応大学医学部神経科教室

[昭和34年8月22日受付]

ールを除去する。これを普通処理グリセロール筋とする。

同様に取り出した家兎腰筋線維束を 10mM EDTA を加えた 50% グリセロール水に浸け、液を換えて 64 時間抽出、 $-15^{\circ}\text{C}$  に 3 週間乃至 2 ヶ月間保存し、使用に際し 10mM EDTA の入った 20% グリセロール水に浸して細分し、24 時間放置し、160mM KCl で約 5 分間洗い、グリセロールを除く。これを EDTA 処理グリセロール筋とする。

### 2) 反応条件

160mM KCl 溶液中に  $\text{MgCl}_2$  を 4mM,  $\text{CaCl}_2$  2mM 又は 4mM, EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) を 2mM の濃度に加え trismaleate buffer にて一定の pH に保ち、これに基質として、ATP, ADP, AMP を  $4\mu\text{M}$  加え、総量を 2ml とする。これにグリセロール処理筋線維を 100mg 計量し、浮遊せしめ、恒温槽中で振盪攪拌しながら反応せしめる。一定時間後 10% 氷冷過塩素酸液 2ml を加えて反応を停止せしめる。

### 3) 化学的定量法

反応液中に生成した無機磷酸は Allen<sup>30)</sup> の方法、アンモニアは Conway<sup>31)</sup> の微量拡散法を用いて測定した。

### 4) 力学効果の観察

0.1mm~0.2mm の直径に細分したグリセロール処理筋線維束を取り、その両端を糸でしばり、一端を試験管の底に固定し、一端を槓杆に取りつける。この試験管に 160mM KCl 溶液 2~3ml を満し、側管より空気を送って攪拌する。試験管内容を一定組成の反応液と交換し、生起するグリセロール処理筋の機械的変化を媒煙紙上に等張的に描画せしめる。

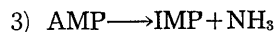
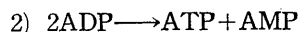
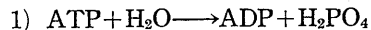
## Ⅲ. 実験成績

### 1) グリセロール処理筋に於けるアンモニア生成系

基質として、ATP, ADP, AMP を各  $4\mu\text{M}$ , pH 7.0 に保った 160mM KCl 溶液に加え、グリセロール処理筋線維を浮遊せしめ、 $37^{\circ}\text{C}$  の恒温槽中で反応せしめ、発生する無機磷酸及びアンモニアを経時的に追求めると Table 1 に見る如き結果を得る。2-5 例の平均値とその標準誤差が示されている。

Fig. 1 に見る如く、ATP を基質とした場合、加えた基質量の約 2 倍量の無機磷酸の発生と、約等量のアンモニアの発生が見られる。ADP を基質とした場合、各々約等量の無機磷酸とアンモニアの発生が見られる。AMP を基質とした場合、約等量のアンモニアの発生が見られるが、約 15 分で反応がほとんど飽和に達した。このことはグリセロール処理筋線維中の AMP deaminase 活性が著しく高いことをしめしている。

以上の成績から、1) グリセロール処理筋線維には、ATP ase は勿論、myokinase, AMP deaminase が充分の活性を以て存在すること、2) 加えられた ATP は ATP ase によって分解され、無機磷酸の発生が見られるのみでなく、下記の諸反応が相ついで生起すること、3) 結果として加えられた基質の 2 倍量の無機磷酸と、等量のアンモニアが発生することが知られる。



つまり、Engelhardt の示唆した adenylic

Table 1.

The liberation of inorganic phosphate (P) and ammonia (N) from ATP, ADP and AMP with the suspension of the glycerol treated muscle fibers. Mean values and standard errors were shown.

	$\mu\text{M}/\text{min}$	5	10	15	30	60	120
ATP	P	1.27±0.34	2.04±0.08	2.57±0.13	3.76±0.10	4.97±0.46	6.61±0.41
	N	0.37±0.01	1.00±0.10	1.10±0.16	2.23±0.24	3.00±0.24	3.43±0.27
ADP	P	0.47±0.12	0.76±0.49	1.30±0.33	2.17±0.50	3.02±0.51	3.24±0.40
	N	0.69±0.13	1.17±0.19	1.85±0.38	2.72±0.48	3.15±0.38	3.39±0.29
AMP	N	2.10±0.30	2.66±0.35	3.27±0.10	3.40±0.11	3.53±0.17	3.60±0.19

acid cycle がグリセロール処理筋に於いて実際に存在することが示された。

2) アンモニア生成系と pH

反応液の pH を5.4から8.6まで変化せしめ、基質として ATP 及び AMP 2 $\mu$ M を加え200mg のグリセロール処理筋線維を浮遊せしめ、20°C の恒温槽中で15分間反応させ、発生する無機磷酸とアンモニア量を測定した。

ATP を基質として発生する無機磷酸の極大

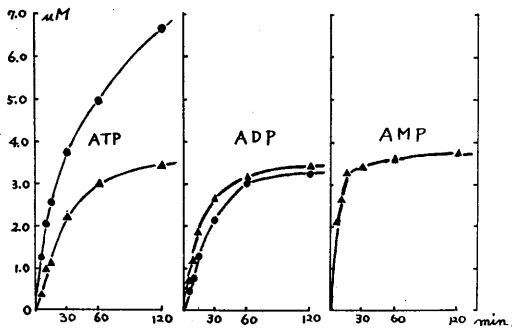


Fig. 1.

The liberation of inorganic phosphate (●) and ammonia (▲) from ATP, ADP and AMP with the suspension of the glycerol treated muscle fibers.

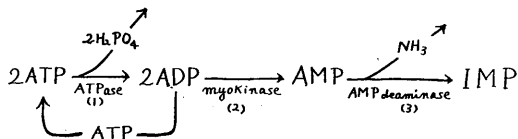


Fig. 2. A scheme of the adenylic acid cycle.

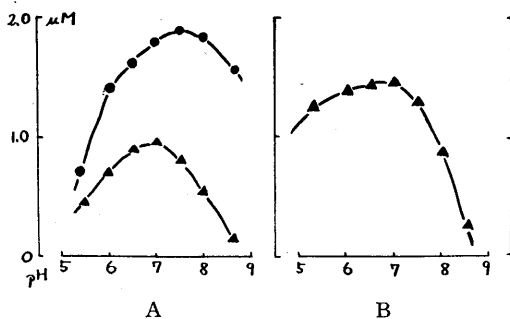


Fig. 3.

The pH dependency curve of the liberation of inorganic phosphate (●) and ammonia (▲) from ATP (A) and AMP (B).

は、pH 7~8 にあり、アンモニアでは pH 7 にある。AMP を基質として発生するアンモニア量から見ると、グリセロール処理筋線維のAMP deaminase 活性の極大は pH 6~7 に平坦な山となって存在する。

ミオシンの ATP ase 活性は pH 6.3 と、pH 9.0 に2つの極大を有することが知られているが、Banga<sup>3)</sup>によれば、アクトミオシンでは ATP ase 活性の極大が中性付近にあるという。グリセロール処理筋の成績はこの蛋白質複合系の性質を表わすものと解される。

又、筋 AMP deaminase は pH 6.0 に鋭い活性極大を有することが Schmidt<sup>32)</sup>等によって報告されているが、ATPase と同様に、この種の複合系では、AMP deaminase 活性の pH 曲線が変化し、中性付近に平坦な極大を示したものであろう。

3) アンモニア生成系と Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, EDTA

グリセロール処理筋のしめす力学効果が、Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, EDTA によって著明な影響をうける事はよく知られている。そこでこれ等がアンモニア生成系に如何なる影響を及ぼすかを検討した。

反応液に各々 MgCl<sub>2</sub> 4mM, CaCl<sub>2</sub> 2mM,

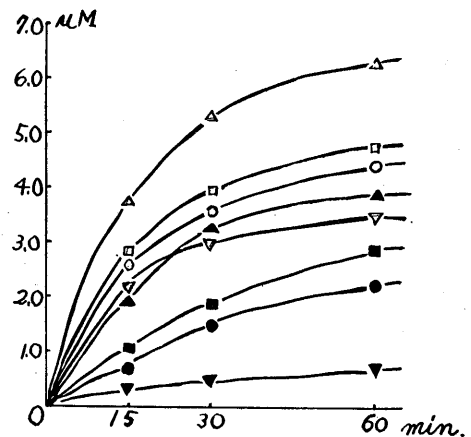


Fig. 4.

The influence of the Mg<sup>++</sup> (Δ▲), Ca<sup>++</sup> (□■) and EDTA (▽▼) to the liberation of inorganic phosphate (white sign) and ammonia (black sign) from ATP with the suspension of the glycerol treated muscle fibers.

EDTA 4mM の濃度に加え、ATP 4 $\mu$ M を基質とし、37°C の恒温槽中で反応せしめ、発生した無機リン酸及びアンモニアを測定した。

更に同一条件で、各々 4 $\mu$ M の ATP, ADP, AMP を基質とし、反応を 5 分で停止せしめ、発生した無機リン酸とアンモニア量を測定した。

しかし乍ら、グリセロール処理筋各標本の差

により、発生量に比較的変動が多いので、それぞれ基質のみの場合の発生量を 100 とし、百分率で下段に示した。\*印はその値が基質のみの場合の値に比し、有意の差を認められないものである。

すなわち、1) ATP を基質として発生する無機リン酸とアンモニアは、両者とも Mg<sup>++</sup> によって増量し、Ca<sup>++</sup> は著明な影響を示さない。2) EDTA によってアンモニアの発生に抑制されるが、無機リン酸の発生には著しい影響はない。3) ADP からの無機リン酸とアンモニアの発生は、両者共、Mg<sup>++</sup> の存在下に増量し、EDTA によって抑制される。4) Ca<sup>++</sup> 存在によって著しい影響は認められない。5) AMP からのアンモニアの発生は、Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, EDTA によって影響されない。

つまり、AMP deaminase 活性は、Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, EDTA によって影響されず、myokinase 活性は Mg<sup>++</sup> によって増強され、EDTA によって抑制される。ATP ase 活性は Mg<sup>++</sup> によって増強されるが、Ca<sup>++</sup>, EDTA によっては著しい影響をうけないものと理解される。

#### 4) グリセロール筋の伸縮と Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, EDTA

次に、化学的過程追求の場合と同様の反応液条件に於けるグリセロール筋の示す機械的効果を記録し、Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup>, EDTA の影響を観察する。

即ち、ATP のみの条件ではグリセロール処理筋線維は緩慢な短縮を示すか、或いは全く機械的効果を示さない。Mg<sup>++</sup> の加わった条件下では著しい短縮をしめす。Ca<sup>++</sup> 或いは EDTA の加わった条件下では、短縮も伸長も示さない。

グリセロール処理筋を伸長せしめる条件は種々知られているがその 1 つに EDTA を使用する条件がある。この EDTA 伸長条件を作り出すために、グリセロール抽出に際し、10mM の EDTA

Table 2.

The influence of the existence of Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup> and EDTA on the liberation of inorganic phosphate (P) and ammonia (N) from ATP, ADP and AMP with the suspension of the glycerol treated muscle fibers.

Mean values and standard errors were shown in upper line, and % values in lower line.

	$\mu$ M%	+Mg <sup>++</sup>	+Ca <sup>++</sup>	+EDTA	
ATP	P	0.99±0.09 100±0	1.28±0.09 129±7	1.18±0.16 124±13*	0.90±0.09 92±5*
	N	0.38±0.05 100±0	0.60±0.06 173±19	0.48±0.05 152±27*	0.10±0.03 30±8
ADP	P	0.50±0.07 100±0	1.02±0.12 235±43	0.57±0.07 96±11*	0.28±0.08 50±14
	N	0.59±0.05 100±0	1.37±0.10 244±35	0.69±0.12 102±13*	0.15±0.14 30±7
AMP	N	3.00±0.20 100±0	2.85±0.16 95±6*	3.05±0.18 101±1*	3.05±0.18 101±1*

\* Signs show that those values are not significant.

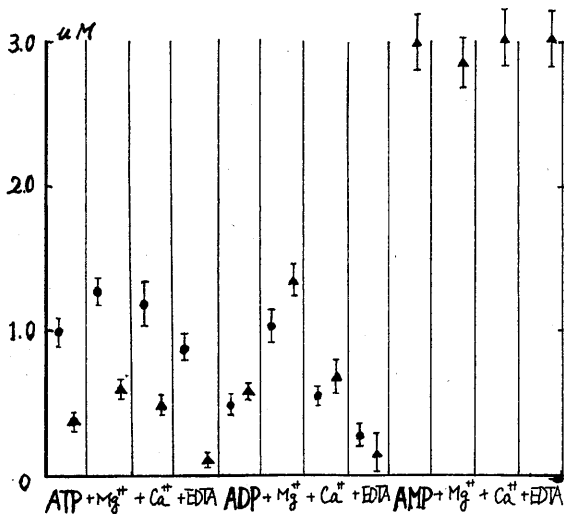


Fig. 5.

The influence of the existence of Mg<sup>++</sup>, Ca<sup>++</sup> and EDTA on the liberation of inorganic phosphate (●) and ammonia (▲) from ATP, ADP and AMP with the suspension of the glycerol treated muscle fibers.

Mean values and standard errors were shown.

Table 3.

The influence of the existence of  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$  and EDTA on the liberation of inorganic phosphate (P) and ammonia (N) from ATP, ADP and AMP with the suspension of the fibres treated by glycerol and EDTA.

$\mu M$	inorganic phosphate liberation					Ammonia liberation					Temp. (°C)
	+ $Mg^{++}$	+ $Mg^{++}$ , $Ca^{++}$	+ $Ca^{++}$	+ EDTA		+ $Mg^{++}$	+ $Mg^{++}$ , $Ca^{++}$	+ $Ca^{++}$	EDTA		
ATP	0.46	0.74	1.56	2.72	0.58	0	0.34	0.78	0.34	0.08	15.8
	0.64	1.04	2.06	2.90	0.46	0.18	0.52	0.94	0.44	0.18	15.8
	0.64	1.04	1.30	2.50	0.46	0.08	0.52	0.60	0.34	0.26	14.0
	0.46	0.64	1.22	2.20	0.78	0.08	0.26	0.60	0.18	0.08	13.5
	0.78	0.90	1.42	2.50	0.70	0.18	0.44	0.60	0.34	0.08	14.0
ADP	0.40	0.82	1.04	0.42	0	0.26	1.38	1.28	0.52	0.18	14.0
	0.06	0.84	1.10	0.46	0	0.42	1.54	1.28	0.60	0.18	14.0
	0.26	1.24	1.30	0.52	0.06	0.52	1.70	1.38	0.60	0.08	15.8
AMP						1.96	2.40	2.14	2.32	2.06	14.0
						2.40	2.74	2.82	2.66	2.48	15.0

を加える方法を試みた。この様にして抽出されたグリセロール筋は、ATP のみの条件では機械的効果を示さず、 $Mg^{++}$  を加えれば著しい伸長を示す。更に  $Ca^{++}$  を加えると短縮する。 $Ca^{++}$  或いは EDTA のみの加わった条件では、伸長も短縮も起さない。 $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$  両者の加わった条件では著明な短縮を示す。

5) EDTA 処理グリセロール筋に於けるアンモニア生成系と  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ , EDTA

pH 7.0 に保った 2ml の反応液に  $MgCl_2$  は 4mM,  $CaCl_2$  は 2mM, EDTA 2mM の濃度に加え、4 $\mu M$  の ATP あるいは ADP, AMP を基質として加え、EDTA 処理グリセロール筋線維 100mg を浮遊せしめ、13.5°C ~ 15.8°C (室温) に保った恒温槽中で、15分間反応せしめ、発生する無機磷酸及びアンモニアを測定した。

各温度の差を無視し、一律に平均値と標準誤差を出して、図示すると Fig. 6 の如くである。

すなわち、ATP を基質とした場合、無機磷酸の発生量は  $Ca^{++}$  附加条件で著増する。 $Mg^{++}$  附加では著しい増加を示さないのみでなく  $Ca^{++}$  と共存した場合、 $Ca^{++}$  によって著増した無機

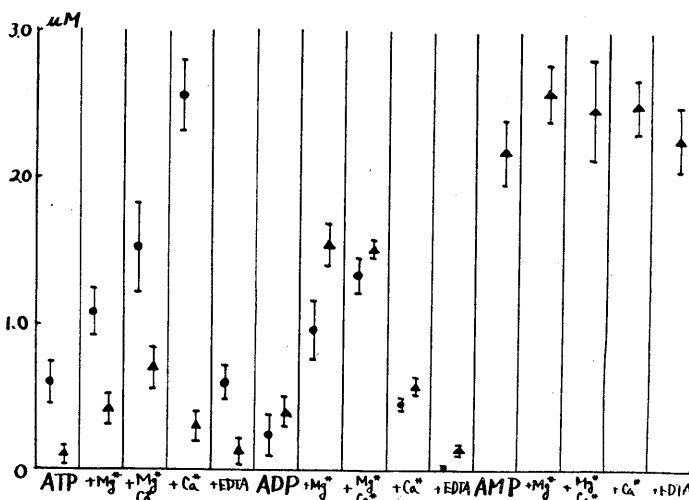


Fig. 6.

The influence of the existence of  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$  and EDTA on the liberation of inorganic phosphate (●) and ammonia (▲) from ATP, ADP and AMP with the suspension of the fibres treated with glycerol and EDTA mean values and standard errors were shown.

磷酸の発生を減少せしめる。EDTAは無機磷酸の発生に影響を及ぼさない。アンモニアの発生について見ると、EDTA 処理の影響のため、ATP 基質のみ、及び EDTA 附加の場合に殆んど認められないが、 $Ca^{++}$  附加条件で微量の発生を認め、 $Mg^{++}$  存在下で増量している。

ADPを基質とした場合、EDTA処理のため、基質のみの場合、EDTA附加の場合では、無機磷酸、およびアンモニアの発生は微量である。 $Ca^{++}$  附加条件で、稍増量の傾向をしめすが、 $Mg^{++}$  存在下では無機磷酸及びアンモニアの発

生量は著しい増加を示す。

AMP を基質とした場合, アンモニアの発生量は  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ , EDTA の附加で著しい差を認めない。

$Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ , EDTA は AMP deaminase 活性に著明な影響を及ぼさず,  $Mg^{++}$  は myokinase 活性を著増せしめるが,  $Ca^{++}$  は著しい影響を及ぼさず, EDTA は myokinase 活性を著明に抑制する。これらの成績は普通処理グリセロール筋で見られたものと同様である。しかし普通処理グリセロール筋では,  $Mg^{++}$  が ATP ase 活性を増強し,  $Ca^{++}$  は有意には増強しないのに反し, EDTA 処理筋では,  $Ca^{++}$  が ATP ase 活性を著しく増強するが,  $Mg^{++}$  は著しい変化を及ぼさないのみか, かえって  $Ca^{++}$  の影響を抑制する如く働く。この様に ATP ase に対する  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$  の影響が EDTA 処理によって逆転していることは注目すべきことと思われる。

## V. 考 按

### 1) 所謂 “adenylic acid cycle” の存在

実験成績 1) に見る如く, グリセロール処理筋には ATP ase のみならず, myokinase, AMP deaminase が存在して, 一連の反応系を形成している。従って, グリセロール処理筋の力学効果を観察する目的で加えられた ATP は, ATP ase によって分解されるのみならず, 引き続いて分解をうける。力学効果と ATP ase との関連を論ずる場合, この事実を無視する事は出来ない。又この反応系が, TCA cycle の調節にあずかるかどうかは別として, もっと直接に, 筋収縮そのものに関与し得ることが考えられる。

### 2) adenylic acid cycle の意義

実験成績 2) 3) に於いて, 普通処理グリセロール筋について, 化学過程の成績と力学効果の観察の結果とを対比して考察してみると, グリセロール筋の短縮には  $Mg^{++}$  の附加が必要であり, 他の条件では力学効果を示さない。  $Mg^{++}$  附加の条件では, ATP ase, myokinase, AMP

deaminase 3 者共, 高い活性を示すことが注目される。

同様に, 実験成績 3) 4) に於いて, EDTA 処理グリセロール筋について見ると,  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$  両者の存在する条件が ATP によって筋線維の短縮する条件であり, この条件下では, ATP ase, myokinase, AMP deaminase, 3 者共活性が高い。ATP と  $Mg^{++}$  の存在する条件は筋線維の伸長する条件であり, この時 myokinase 活性は増強するが, ATP ase 活性は比較的抑制されている。

Weber<sup>7)~9)</sup> 等によれば, グリセロール筋を 0°C 条件に置いて, ATP ase 活性を抑制すれば, グリセロール筋は伸長する。ATP 高濃度存在による効果として伸長が現われるとすれば, adenylic acid cycle に於いて, myokinase 以下の活性が高い場合, 生じた ADP から ATP の再合成が高まり, AMP deaminase は, 生じた AMP を除去することによって myokinase の ATP 合成反応を高め, 結果として ATP 濃度を高からしめ, その伸長効果を増強するものと言えよう。

又, 収縮時には ATP ase 活性が高く, myokinase 以下の反応は生じた ADP を除去し, ATP ase 活性をより高めるものと言える。

このように筋収縮に於ける ATP ase の一義的な地位は揺ぎないものと言える。Parnas<sup>23)~26)</sup> 等によれば, アンモニア生成系は骨筋に特徴的に存在し, 滑平筋には殆んど認められず, 心筋にも弱い。又下等動物には myokinase の存在しない筋肉が知られている。このように ATP ase は筋収縮の基本的役割に関係するもので, ATP ase のみでも筋収縮は可能であるが, 二次的に獲得された系として, 更にその迅速な収縮の繰返しを adenylic acid cycle が可能としていると考えることが出来る。

### 3) EDTA の作用

EDTA は chelating agent として知られ, 特に 2 価イオン,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  に対して強く作用するといわれる。その作用の 1 つとして myo-

kinase 活性を強力に抑制する。EDTA が ATPase に著明な影響をあたえない点より見て、そのキレート作用以外に、直接作用によるものと考えねばならない。

EDTAを加えて抽出を行なう場合、Bozler<sup>12)-20)-26)</sup>によれば、内在  $Ca^{++}$ 、 $Mg^{++}$  の殆んど半量が抽出せられるという。EDTA 処理筋では myokinase 活性が極めて低い。これは EDTA がグリセロール筋内に結合して存在するものと考えられる。EDTA 処理筋では、 $Mg^{++}$  によって myokinase 活性の著明な増強を示す。これは、加えられた  $Mg^{++}$  が結合 EDTA を除去すると共に、それ自身の myokinase 増強作用を現わすものであろう。

$Ca^{++}$  を EDTA 処理筋に加えた場合、ATP による短縮は起らないにもかかわらず、ATPase 活性のみ盛んで、myokinase 以下の反応は殆んど起らない。このように短縮と ATPase が分離することは注目すべき事であり、AMP が ATP 短縮を抑制する事実と考え合せ、生じた ADP が ATP 短縮を妨げる可能性も考えられよう。

しかし EDTA 処理筋に於いて、ATPase に対し、 $Ca^{++}$  が増強作用を現わし、 $Mg^{++}$  がその増強効果を示さないのは如何に解すべきか。単なる EDTA のキレート作用のみでは説明不可能である。EDTA 処理によって、内在  $Ca^{++}$ 、 $Mg^{++}$  除去と共に、構造蛋白質自身の変化が生じ、 $Ca^{++}$ 、 $Mg^{++}$  の ATPase に対する関係が逆転したものと考えられる。例えばアクトミオシン蛋白質複合体の解離による性質の変化とも考えられ、この点について更に追求が必要と思われる。

## V. 総 括

1) 家兎腰筋のグリセロール処理標本には、ATPase 以外に、myokinase、AMP deaminase の両者が、充分の活性を以て存在している。

2) グリセロール処理筋に於ける AMP deaminase 活性の極大は、単離酵素標本と異り、pH 6~7 に平坦な山となって存在する。

しかし、グリセロール処理筋に於いても、myokinase 活性は、 $Mg^{++}$  によって増強され、EDTA によって抑制される。これに反し、Schmidt らの報告した AMP deaminase に対する  $Ca^{++}$ 、 $Mg^{++}$ 、EDTA の作用は、グリセロール処理筋では認められない。

3) EDTA 処理グリセロール筋に於いては、ATPase 活性は  $Ca^{++}$  によって増強される。myokinase、AMP deaminase に対する  $Mg^{++}$ 、 $Ca^{++}$ 、EDTA の影響は、普通処理グリセロール筋と同様である。

4) グリセロール処理筋の示す力学効果と対比して考えると、短縮時には adenylic acid cycle 全体として活性が高く、伸長時には、ATPase 活性が低く、myokinase 以下の活性が高いことが注目される。

従って、adenylic acid cycle は、伸長時に ATP の再合成反応に作用し、短縮時に ATPase 活性の増強に働き、筋肉の迅速なる収縮、弛緩に一役を演ずるものと考えられる。

稿を終るに臨み、終始御鞭撻を賜りました加藤教授、並びに御指導御校閲を賜りました、林教授、岡本教授に深謝致します。

## 文 献

- 1) Engelhardt, W. A and Ljubimova, M. N. (1939) Nature, **144**, 668
- 2) Engelhardt, W. A. (1946) Advances in enzymology, **6**, 147
- 3) Syent-Györgyi, A. (1947) Chemistry of muscular contraction., Acad. press, New York
- 4) Syent-Györgyi, A. (1948) Nature of life, Academia press. New York
- 5) Syent-Györgyi, A. (1951) Chemistry of muscular cotraction
- 6) Syent-Györgyi, A. (1953) Chemical physiology of Contraction in Body and Heart Muscle., Acard. Press, New York
- 7) Weber, H. H. (1951) Nature. **167**, 381
- 8) Weber, H. H. and Portzehl, H. (1952) Advances in Protein Chemistry **7**, 161
- 9) Weber, H. H. (1953) Biochem. et Biophys. Acta. **12**, 150
- 10) Mommaerts, W. (1950) Muscular contraction, Interscience Publisches, New York
- 11) Morales, M. F. (1955) Physiol. Rev. **35**, 475

- 12) Bozler, E. (1951) Am. J. physiol. **167**, 276  
 13) Bozler, E. (1952) Am. J. physiol. **168**, 760  
 14) Bozler, E. (1952) Am. J. physiol. **171**, 359  
 15) Bozler, E. (1953) Experimentia. **9**, 1  
 16) Bozler, E. (1953) J. Gen. physiol. **37**, 53  
 17) Bozler, E. (1953) J. Gen. physiol. **37**, 63  
 18) Bozler, E. (1954) J. Gen. physiol. **38**, 53  
 19) Bozler, E. (1956) J. Gen. physiol. **38**, 735  
 20) Bozler, E. (1956) J. Gen. physiol. **39**, 789  
 21) 永井寅雄・寺山良雄 (1955) 生体の科学 **6**, 263  
 22) 永井寅雄 (1955) 筋収縮の物理科学 東京  
 23) Parnas, J. K., Mozolwski, W. L. (1927) Biochem. Zshr. **184**, 399  
 24) Parnas, J. K. (1929) Biochem. Zshr. **206**, 16  
 25) Parnas, J. K. (1932) Biochem. Zshr. **245**, 159  
 26) Parnas, J. K. and Lewinski, W. (1935) Biochem. Zshr **276**, 398  
 27) Englhardt, W. A. (1952) II e Congres International de Biochimie, Paris, 50  
 28) 古江生子 (1958) 日本生理誌 **20**, 287  
 29) 岡本彰祐・他 (1957) 日本生理誌 **19**, 892  
 30) Allen, R. J. L. (1940) Biochem. J. **34**, 858  
 31) Conway, E. J. and Cooke, R. (1939) Biochem. J. **33**, 479  
 32) Schmidt, G. (1928) Z. physiol. chem. **174**, 243

### Summary

1) It was reported that a considerable high activity of myokinase and AMP deaminase was demonstrated in every sample of the glycerol treated fibers of rabbit psoas muscle, when the adequate ionic medium was given.

2) Results indicated that effects of pH, bivalent ions and EDTA to the AMP deaminase activity of the glycerol treated fibers differed from that of the myosin fraction.

3) The above mentioned results were compared with those results which obtained on the fibers extracted in glycerol and EDTA, and it was noticed that the strong activation of ATP ase without accompanying the shorting of the fibers was demonstrated by the addition of  $Ca^{++}$  in the fibers treated with glycerol and EDTA.

4) The significances of the mentioned adenylate reactions in the mechanical changes of the fibers were discussed.

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

## 自律神経緊張度と耐寒性の差異 612.592:612.89.08

The Difference of Cold Resistance as Reflected on the Tonic Shift in the Autonomic Nervous System.

吉田敬一 (YOSHIDA-Keiichi)\*

著者は、さきに手掌皮膚電気抵抗、前腕皮膚電気抵抗、舌下温度、最大血圧および最小血圧、心拍間隔、唾液分泌量、白血球数の8項目を用いて、20~58才の成年男子について自律神経緊張状態を判定する因子分析をおこない発表した<sup>1)</sup>が、同様の因子分析法を用いて判定した自律神経緊張度が、主観的調査の結果にもとづいて区分された寒さに弱い群と、寒さに強い群の間に、どの様な差をもってあらわれているかを、陸上自衛隊員について、寒冷にもっとも適応した時期と考えられる2月中旬に測定した。

その結果、交感神経系の緊張が、寒さに強い群に、はっきりみとめられたのである。また、原島<sup>2)</sup>らも、すでに自律神経系にあらわれる季節変動を追及し、冬季に交感神経系の緊張が高まっていることを見出したが、とくに交感神経を切断したウサギは、寒冷にさらしても、健常ウサギと異り直腸温の上昇はみとめられないと報告した。また、田多井ら<sup>3)</sup>の起なった急性寒冷バク露の実験においても、急性寒冷バク露時に、アドレナリン、ノルアドレナリンの分泌増高をふくめた、交感神経緊張状態と、副腎皮質ホルモンの分泌増進が、ほとんど例外なく全被検者にあらわれていた。

この交感神経緊張とアドレナリンの分泌増加は、下垂体前葉→ACTH→副腎皮質、又は、内臓神経→副腎皮質のいずれの経路を考へても、表裏一体のものであろう。また、自律神経系および副腎皮質ホルモンが季節に応じて体熱産生を調節するのに重要な役割をもっているものであることを示唆するものである。したがって、いわゆる体質的な耐寒性を解析するための本研

究においても、1つの見方として、手掌皮膚電気抵抗、舌下温度、最高血圧、最低血圧、脈拍数、唾液分泌量、基礎代謝率の7項目を因子にとりあげて、自律神経緊張状態を判定する因子分析をおこなったので、報告する。

### 1. 方 法

このような研究においては、被検者を寒さに弱い群と、寒さに強い群に正しく分類する事が必要であるが、ここでは質問調査表によつた。すなわち、質問順位1)~4)のうち1)、1年の生活を通じて夏の方がよい。2) 診断をうける程度のカゼを毎年ひく。3) 診断をうける必要のないカゼをよくひく。4) シモヤケが毎年出来る。と回答したものを第Ⅰ群、1) 冬の方がよい。2)、3) カゼをひいたことがない。4) シモヤケが出来ない。と回答したものを第Ⅲ群。中間の回答をしたものを第Ⅱ群とした。この分類によると、第Ⅰ群は寒さに弱い群、第Ⅲ群は寒さに強い群になる。この調査表を自衛隊員400名に配布し、記入の正確なもの354名の中から第Ⅰ群52名、第Ⅲ群188名が得られた。この中からさらに、5) 厚着か否か、6) 夏ヤセの有無、7) 冷水浴の習慣、8) 発汗の状態などの項目の回答を参考にして第Ⅰ群および第Ⅱ群各36名、計72名をえらんで測定をおこなった。この両群の年齢平均は第Ⅰ群22.1才、第Ⅲ群22.0才で差はなかった。測定は、昭和33年2月18日~20日の3日間にわたり、0600起床後直ちに排尿、排便をすませた後、被検者を安静仰臥の姿勢をとらせ、0630~0800の90分間に、脈拍数、血圧、B.M.R., 舌下温度、皮膚電気抵抗、唾液分泌量の順序でおこなった。

測定法をのべると、手掌皮膚電気抵抗は、い

\* 国立公衆衛生院生理衛生学部  
〔昭和34年8月24日受付〕

いわゆる単純回路を用いて、Ag 電極を左手掌の拇指球と小指根部におき、直流 6Volt を与えて、2~3分後電流計の指針の安定するのをまって、電流値を読んだ。なお測定部位は、前もってアルコールで充分清拭し、電極と皮膚の接触には NaCl 電極糊を用いた。

舌下温度は、あらかじめ温度補正をおこなった棒状体温計（1分計）を使用し、舌下に挿入3分後に検温をおこなった。

血圧は、水銀血圧計を使用し、最高血圧は第1点、最低血圧は第5点を聴診法により測定した。

脈拍は、撓骨動脈々拍を1分間測定。

唾液分泌量は、あらかじめ秤量した時計皿を使用し、1分ごとに唾液を時計皿にはかせ3分間の総分泌量を計った。

基礎代謝率は、ダグラスバッグで5~10分間呼吸採取のうえ、労研式ガス分析器を用いて酸素消費量、炭酸ガス排出量、呼吸商、ついで基礎代謝率を算出した。

## II. 因子分析

得られた結果のうち、手掌皮膚電気抵抗は  $20\mu A$  を流すに必要な電圧に換算し、この換算値、最高血圧、最小血圧ならびに唾液分泌量は、それぞれその値の対数を取り、分布を正規分布に近づけてから数学的処理を行なった。

さて、自律神経緊張状態の変動に関与する前記7因子、手掌皮膚電気抵抗、舌下温度、最大血圧、最小血圧、脈拍数、唾液分泌量、B.M.R. の変向に関して、表1にしめすような想定をおこなった。この想定にしたがうと、各検査法相互間の相関係数の符号は表2にしめすようにならない。

一方、著者の測定した7項目の機能検査項目間の相関係数を要素とする7行7列の相関行列は表3のとおりである。表2と表3の符号を比較すると大略よく一致しており、 $r_{12}$ ,  $r_{16}$ ,  $r_{17}$ ,  $r_{26}$  (ただし  $r_{ij}$  はそれぞれ第  $i$  行目、第  $j$  列目の検査法相互間の相関係数) の4カ所に符号の一致をみない。しかしその値は小さいので、表3にしめす相関行列について重心解による因子分析をおこなった<sup>4)</sup>。

すなわち、表3にしめした相関行列の

Table 1. Assumed Superiority in the Autonomic Nervous System.

Items of tests	Assumed Superiority		Signs of factor loads with regard to the presumed axes	
	Sympatheticotonic	Parasympathicotonic	A	B
1 Volar galvanic skin resistance	low	high	-	+
2 Sublingual temperature	high	low	+	-
3 Systolic blood pressure	high	low	+	-
4 Diastolic blood pressure	high	low	+	-
5 Pulse rate	high	low	+	-
6 Salivary secretion	high	low	+	-
7 B.M.R.	high	low	+	-

Table 2. Signs of Correlation Coefficient among Tests.

Items of Tests	1	2	3	4	5	6	7
1 Volar galvanic skin resistance	-	-	-	-	+	-	-
2 Sublingual temperature		+	+	+	-	+	-
3 Systolic blood pressure			+	+	-	+	-
4 Diastolic blood pressure				+	-	+	-
5 Pulse rate					-	+	+
6 Salivary secretion						+	-
7 B.M.R.							+

Table 3. Calculated Correlation Coefficients among Tests.

Items of Tests	1	2	3	4	5	6	7
1 Volar galvanic skin resistance		.080	-.080	-.116	-.011	-.020	.009
2 Sublingual temperature			.370	.189	.116	.018	.014
3 Systolic blood pressure				.579	.142	-.087	.268
4 Diastolic blood pressure					.203	-.312	.225
5 Pulse rate						-.018	.087
6 Salivary secretion							.019
7 B.M.R.							

Table 4. Calculating Table for Load Coefficients of F<sub>1</sub>.

Variable	①	2	3	* 4	5	⑥	7	
① 1	.116	.020	③ 0.081	④ .116	⑤ .011	⑥ -.020	⑦ -.009	
2		.370	.370	.189	.116	⑥ .018	.014	
3			.579	.579	.142	⑥ .087	.268	
* 4				.579	.203	⑥ .312	.225	
5					.203	⑥ .018	.087	
⑥ 6						.312	⑥ .019	
7							.268	
Z	.436	1.157	2.106	2.233	.813	.816	.920	T = 8.017
Σ	.338	1.021	2.106	2.233	.813	.672	.864	√T = 2.836
f <sub>i</sub>	.119	.350	.713	.787	.287	.237	.305	√T = 0.3526
F <sub>i</sub>	-.119	.350	.713	.787	.287	-.237	.305	

対角線上の $r_{jj}$  ( $j=1, 2, \dots, 7$ )にはCommunalityの近似値として、各列における相関係数の絶対値の最大のを正符号でいれて各列の和を計算する。つぎに各列の絶対値の $|\Sigma|$ 和が最大の列の相関係数の符号がすべて正となる様に変数の反転をおこなう。表4では、第4列が $|\Sigma|=2.233$ で最大であり、この列でマイナスの符号をもつものは $r_{14}$ ,  $r_{46}$ ある。これをプラスの符号にするため変数1と6をマイナスとして、それぞれ反転をおこなう。つぎに符号変換後の各要素を用いて列和 $\Sigma$ ,  $\Sigma'$ の和 $T$ , その平方根 $\sqrt{T}$ , その逆数 $1/\sqrt{T}$ を計算する。第1因子の因子負荷は $A_{ji}=S_j/\sqrt{T}=S_{j1} \times 1/\sqrt{T}$ の式から求められる。 $(j=1, 2, \dots, 7)$   $f_1$ は各列の $\Sigma$ 値に $1/\sqrt{T}=0.3526$ を乗じてえた第1因子の因子負荷であるが、この場合には軸を反転した変数1と6とがあるので仮の符号であって、 $F_1$ は仮の符号を直の符号にする為に変数1と6の符号を変換したもので、これが第1因子の因子負荷である。第2因子の因子負荷を出す為には、剰余行列 $1r_{jk}=r_{jk}-A_{j1} \times A_{k1}$ をつくらねばならない。第1因子剰余計算に必要な $A_{j1} \times A_{k1}$ (この場合の $A_{j1}$ ,  $A_{k1}$ はいずれも符号変換前のものを使用する)を計算し、これを表5に示す。表6は $1r_{jk}=r_{jk}-A_{j1} \times A_{k1}$ によってつくられた剰余行列をしめし、この剰余行列によって、第2因子の因子負荷を算出する。その手続きは、第1因子の因子負荷をだす場合と全く同様にしておこなう。仮の符号 $f_2$ を正符号の $F_2$ に直すには、変数の反転をおこなったものの $f_2$ の符号を変換する。表6を例にとれば、第1変数 $Z_1$ は、第1因子の因子負荷を出すとき、第2因子の因子負荷をだすときの計2回反転をおこなったため、 $m$ 次の空間で $Z_1$ ベクトルは $- \times \ominus = +$ と、もとの位置にもどったのであるが、 $f_2$ の符号それ自体がマイナスとなっているため $- \times \ominus \times - = -A_{12}$ となる。また、第6変数 $Z_6$ は、第1因子の因子負荷をだすときに反転したままであるから、 $- \times \oplus = -A_{62}$ となる。以下はすでにのべたと同様にして、仮の符号の $A_{j2}$ を用いて $A_{j2} \times A_{k2}$ を計算して表7に示す。第

Table 5.  $A_{j1} \times A_{k1}$  for Calculating  $F_1$ -Residuals.

Variable	1	2	3	4	5	6	7
1	.014	.013	.088	.094	.034	.028	.036
2		.130	.267	.283	.103	.085	.110
3			.552	.585	.213	.176	.227
4				.649	.226	.186	.240
5					.082	.068	.087
6						.056	.072
7							.093

Table 6. Calculating Table for Load Coefficients of  $F_2$ .

Variable	$\ominus 1$	$\ominus 2$	$\ominus 3$	4	$\ominus 5$	* 6	7
$\ominus 1$	.132	-.063	-.007	$\ominus .052$	-.020	$\oplus .048$	-.045
$\ominus 2$		.240	.103	$\oplus .094$	.013	$\oplus .133$	-.066
$\ominus 3$			.027	$\oplus .006$	-.071	$\oplus .089$	.041
4				-.010	$\oplus .023$	.126	$\oplus .015$
$\ominus 5$					.121	$\oplus .020$	.000
* 6						.256	$\oplus .091$
$\ominus 7$							.175
$\Sigma_0$	.001	.000	-.002	.000	.000	.001	-.001
$ \Sigma $	.367	.712	.344	.356	.268	.763	.433
$\Sigma$	-.007	.454	.188	.172	.086	.763	.211
$f_2$	-.005	.332	.138	.126	.063	.559	.154
$F_2$	-.005	-.332	-.138	.126	-.063	-.559	-.154

$T=1.867$   
 $\sqrt{T}=1.366$   
 $1/\sqrt{T}=0.7321$

Table 7.  $A_{j2} \times A_{k2}$  for Calculating  $F_1$ - and  $F_2$ -Residuals.

Variable	1	2	3	4	5	6	7
1	.000	-.002	-.001	-.001	.000	-.003	-.001
2		.110	.045	.012	.021	.186	.051
3			.019	.017	.007	.077	.021
4				.016	.008	.070	.019
5					.004	.035	.010
6						.315	.066
7							.024

Table 8. Calculating Table for Load Coefficients of  $F_3$ .

Variable	$\ominus 1$	* 2	- 3	4	$\ominus 5$	$\ominus 6$	$\ominus 7$
$\ominus 1$	.132	$\oplus .061$	$\oplus .006$	$\oplus .051$	-.020	.051	-.044
- 2		.130	.057	.052	$\oplus .008$	$\oplus .053$	$\oplus .117$
- 3			.008	-.011	$\oplus .078$	$\ominus .012$	$\ominus .020$
4				-.056	$\ominus .015$	$\ominus .056$	$\oplus .004$
$\ominus 5$					.117	-.015	-.010
$\ominus 6$						-.056	.005
$\ominus 7$							.151
$\Sigma_0$	.001	.000	.002	.001	.001	.000	.001
$ \Sigma $	.365	.478	.192	.245	.263	.248	.351
$\Sigma$	.237	.478	.106	-.031	.143	-.030	.203
$f_3$	.225	.454	.101	-.029	.136	-.028	.193
$F_3$	-.225	-.454	-.101	-.029	.136	-.028	.193

$T=1.106$   
 $\sqrt{T}=1.052$   
 $1/\sqrt{T}=0.9505$

3因子の因子負荷をだすための剰余行列 $2r_{jk}=r_{jk}-A_{j2} \times A_{k2}$ を表8にしめす。同様の手続きを繰返して得た第4因子の因子負荷を出すための剰余行列を表9及び表10にしめす。表9は、計算の出発点となった表4に比して、各要素が

充分小となったので、計算はF<sub>3</sub>算出で打切った。

かくして表11に示すような3つの共通因子とその因子負荷のパターンが得られた。

さて、自律神経緊張状態の変動に関与する7項目の変向に対して、表1に示すような想定をおこなったので、因子分析の結果定められた自律神経平衡因子をしめす座標軸上の各検査法の座標(因子負荷)のもつ符号は、表1に示めたAまたはBのような符号を持たなければならない。そこで、因子分析の結果得られた3つの共通因子の中から、表1の想定A(交感神経優越)と全く符号の一致をみた第1因子を自律神経平衡因子として採用する事にした。したがって、自律神経緊張状態の変化の方向は、マイナス方向が副交感神経優越をしめし、プラス方向が交感神経優越をしめすことになるわけ

Table 9.

A<sub>13</sub> × A<sub>k3</sub> for Calculating F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, and F<sub>3</sub>-Residuals.

Variable	1	2	3	4	5	6	7
1	.051	.102	.023	-.006	.031	-.006	.013
2		.206	.016	-.013	.062	-.013	.088
3			.010	-.003	.011	-.003	.019
4				.001	-.004	.001	-.006
5					.018	-.004	.026
6						.001	-.005
7							.037

Table 10.

Calculating Table for Load Coefficients of F<sub>4</sub>.

Variable	1	2	3	4	5	6	7
1	.081	-.011	-.017	.057	-.051	.057	-.087
2		-.076	.011	.063	-.054	.056	-.029
3			-.002	-.008	.064	-.009	-.039
4				-.057	-.011	-.059	.010
5					.099	-.011	-.036
6						-.056	.010
7							.111
	-.001	-.002	.000	-.003	.000	.000	.001

Table 11. Common Factors and Factor Loads.

Items of Tests	Factor Loads		
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>
1 Volar galvanic skin resistance	-.119	-.005	-.225
2 Sublingual temperature	.360	-.332	-.154
3 Systolic blood pressure	.743	-.138	-.101
4 Diastolic blood pressure	.787	.126	-.029
5 Pulse rate	.287	-.063	.136
6 Salivary secretion	-.237	-.359	-.028
7 P.M.R.	.305	-.154	.193

Table 12. Simultaneous Equations for Calculating β-Weights.

$$\begin{aligned} \beta_{11} + 0.020\beta_{21} - 0.081\beta_{31} - 0.144\beta_{41} - 0.044\beta_{51} - 0.020\beta_{61} + 0.009\beta_{71} &= -0.119 \\ 0.020\beta_{21} + \beta_{22} + 0.370\beta_{23} + 0.187\beta_{24} + 0.114\beta_{25} + 0.048\beta_{26} + 0.044\beta_{27} &= 0.360 \\ -0.081\beta_{31} + 0.370\beta_{32} + \beta_{33} + 0.577\beta_{34} + 0.142\beta_{35} - 0.087\beta_{36} + 0.268\beta_{37} &= 0.743 \\ -0.144\beta_{41} + 0.187\beta_{42} + 0.577\beta_{43} + \beta_{44} + 0.203\beta_{45} - 0.312\beta_{46} + 0.225\beta_{47} &= 0.787 \\ -0.044\beta_{51} + 0.114\beta_{52} + 0.142\beta_{53} + 0.203\beta_{54} + \beta_{55} - 0.048\beta_{56} + 0.087\beta_{57} &= 0.287 \\ -0.020\beta_{61} + 0.048\beta_{62} - 0.087\beta_{63} - 0.312\beta_{64} - 0.048\beta_{65} + \beta_{66} + 0.019\beta_{67} &= -0.237 \\ 0.009\beta_{71} + 0.044\beta_{72} + 0.268\beta_{73} + 0.225\beta_{74} + 0.087\beta_{75} + 0.019\beta_{76} + \beta_{77} &= 0.305 \end{aligned}$$

Table 13. β-Weight.

Item of test	β-weight
1 Volar galvanic skin resistance	-0.020
2 Sublingual temperature	0.116
3 Systolic blood pressure	0.374
4 Diastolic blood pressure	0.487
5 Pulse rate	0.112
6 Salivary secretion	-0.055
7 P.M.R.	0.082

Table 14. Normalized Equations.

1 Volar galvanic skin resistance	Z <sub>1</sub> = 4.95X <sub>1</sub> - 3.07
2 Sublingual temperature	Z <sub>2</sub> = 2.309X <sub>2</sub> - 84.18
3 Systolic blood pressure	Z <sub>3</sub> = 28.41X <sub>3</sub> - 58.92
4 Diastolic blood pressure	Z <sub>4</sub> = 0.07X <sub>4</sub> - 7.97
5 Pulse rate	Z <sub>5</sub> = 0.187X <sub>5</sub> - 8.71
6 Salivary secretion	Z <sub>6</sub> = 3.52X <sub>6</sub> - 10.87
7 P.M.R.	Z <sub>7</sub> = 0.244X <sub>7</sub> - 9.60

である。

自律神経平衡因子として採用した第1因子を右辺に、表3に示めた相関行列の各要素を係数とする7元一次方程式(表12に示す)をとくことによって、自律神経平衡因子算定に必要なβ-weightが得られる。このβ-weightの算出のための計算は電子計算器によった。この結果得られたβ-weightを表13にあげる。

このβ-weightを用いて、F = -0.020Z<sub>1</sub> + 0.116Z<sub>2</sub> + 0.374Z<sub>3</sub> + 0.487Z<sub>4</sub> + 0.112Z<sub>5</sub> - 0.055Z<sub>6</sub> + 0.082Z<sub>7</sub> (ただしZ<sub>i</sub>(i=1, 2, …, 7)は第i番目の検査法の測定値、または測定値の対数をとって正規化したものを、

$$Z_i = \frac{\text{測定値} - \text{標本平均}}{\text{標準偏差}}$$

の式によって規格化したもの)によって、自律神経平衡因子が算出出来ることになった。

Ⅲ. 結果と考察

さて、 $F = -0.020Z_1 + 0.116Z_2 + 0.374Z_3 + 0.487Z_4 + 0.112Z_5 - 0.055Z_6 + 0.082Z_7$  および表14にしめす規準式をもって、規格化した  $Z_i$  を用いて、総計72例の F 因子、すなわち自律神経平衡因子を算出した結果を図示すると、図1にしめすような分布となった。同図からわかるように、その分布は正規分布に近似し、標本平均  $\bar{F} = -0.054$ 、標本標準偏差  $4F = 0.853$  である。

本研究と同様に因子分析法を用いて、自律神経緊張状態を測定した報告としては、唾液分泌量、手掌ならびに前腕電気伝導度、最小血圧、心拍間隔、舌下温度の6検査項目を用いて、6~13才の小児および飛行学生についておこなった Wenger の広汎な研究<sup>5)6)</sup>、さらに以上の6項目に最大血圧を加えて7検査項目の検査を男子高校生と看護婦講習生についておこなった葛谷<sup>7)</sup>らの報告、男女中学生および女子高校生についておこなった榎原<sup>8)</sup>、高田<sup>9)</sup>、佐藤<sup>10)</sup>、白石<sup>11)</sup>。らの報告があり、更に、結核患者、精神神経症の患者などの病的集団に応用した小川<sup>12)</sup>、古閑<sup>13)</sup>らの報告がある。

これらの報告と、本研究とは、検査項目、検査方法、検査の対象となった集団の相異などから、厳密な比較検討は出来ないが、各報告の自律神経平衡因子算出のための  $\beta$ -weight を表15にあげておく、これによれば、各報告とも同じ傾向をしめしていることがわかる。

さらに、この72例を主観的調査の結果によって区分した寒さに弱い群と寒さに強い群に分けて F 得点のヒストグラムをしめすと図2のようになった。すなわち、寒さに弱い群の因子得点の平均は  $-0.254$ 、その標準偏差は  $0.867$  であり、また強い群の因子得点の平均は  $0.165$ 、その標準偏差は  $0.735$  であった。しかし、両群の因子得点の平均値の差を検定した結果は有意とみとめられなかった。

そこで、両群における自律神経平衡因子得点 F のマイナスのものと、プラスのものとの割合を算出したところ、寒さに弱い群では、マイナ

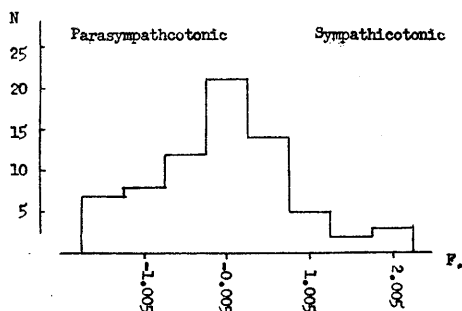


Fig. 1. Distribution of F in 72 subjects 9 (Mean  $-0.054$  S. D.  $0.852$ )

Table 15.  $\beta$ -Weights Ever Obtained by Various Investigators.

Items of Tests	$\beta$ -Weight for calculating factoring score	By data of High School boys by Wenger	Parasympathotonic items by Shigenaga	Parasympathotonic items by Shigenaga	Parasympathotonic items by Shigenaga
1 Volar galvanic skin resistance	-.020	.12	.087	.176	.002
2 Sublingual temperature	.116	-.25	-.396	-.380	-.186
3 Systolic blood pressure	.374	-.27	-.091	-.052	-.457
4 Diastolic blood pressure	.487	-.23	-.081	-.308	-.185
5 Pulse rate	.112	.33	.402	.315	.282
6 Salivary secretion	-.055	.06	.047	.061	.124
7 B.M.R.	.082	-	-	-	-

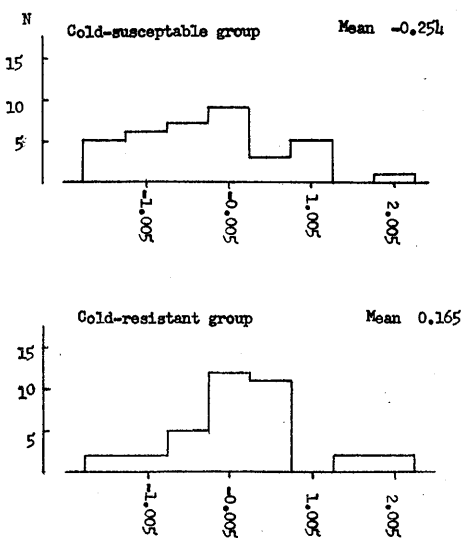


Fig. 2. Comparison of F-distribution between cold-resistant and cold-susceptible groups.

ス24例、プラス12例であり、この群では副交感神経優越者の割合の多いことがわかった。これに反して、寒さに強い群では、マイナス12例、プラス24例と全く逆の関係にあり、交感神経優越のもの割合が多いことがわかった。この両群の相異、すなわち、各群においてしめる交感神経優越者と副交感神経優越者の比率の差は、 $X^2$ 法の検定により危険率1%以下で有意とみとめられた。

このようにして、主観的に区別した耐寒性の弱い群と強い群の間には、自律神経平衡因子得点の平均点数からみて、寒さに弱い群がより副交感神経優越をしめし、反対に寒さに強い群がより交感神経優越をしめす傾向にあることがわかった。しかし、平均点数の数字の上からは、その差が有意でなく、自律神経平衡因子の符号の正負をそれぞれ、交感神経優越者および副交感神経優越者として、強弱両群の該当者のいる割合を比率で求めた結果はじめて、決定的な有意差で耐寒性の強いものには交感神経優越者が多く、耐寒性の弱いものには反対に副交感神経優越者が多いということが示されたのである。

本研究と同様な方法で、同一職場の男子労務者についてしらべた白石<sup>14)</sup>らの報告によると、暑い方がしのぎやすい群は、寒い方がしのぎやすい群より副交感神経優越であり、自律神経平衡因子の季節変動をみると、寒い方がしのぎやすい群は8月に副交感神経優越であり、暑い方がしのぎやすい群は、逆に8月に交感神経優越になっている。さらに、血清K量、血清Ca量、好中球、リンパ球、好酸球百分率などの血液成分の季節変動をしらべた原島<sup>15)</sup>、外山<sup>16)</sup>、渡辺<sup>17)18)</sup>らの報告によっても、冬は交感神経が緊張しており、夏は逆に副交感神経系が緊張しているという。本研究においても同一の傾向をしめしたが、この季節と交感神経緊張および耐寒性との関係には、さらに副腎および甲状腺機能が関与していると考えられるが、これらについては、寒さに弱い群と強い群の両群のほか、さらに中間の群を加えた3群について、冬季、夏季にわたって測定を継続中なので、その

結果をまとめて更に考察したい。

#### IV. 要 約

いわゆる体質的な耐寒性の解析のための1つの見方として、陸上自衛隊員72名について2月中旬に、手掌皮膚電気抵抗、舌下温度、最高血圧、最低血圧、脈拍数、唾液分泌量、基礎代謝率の7項目をとりあげて自律神経緊張状態を測定する因子分析をおこなった。

その結果、自律神経平衡因子Fの算出式として、 $F = -0.020Z_1 + 0.116Z_2 + 0.374Z_3 + 0.487Z_4 + 0.112Z_5 - 0.055Z_6 + 0.082Z_7$ を、ついで72例のF因子を算出した。この分布は正規分布に近く、標本平均  $-0.054$ 、標準偏差  $0.853$ であった。

そこで主観調査により区分した耐寒性の弱い群と強い群別にF因子の平均を求めると、前者は  $-0.254$ 、後者は  $0.165$ で、両者の間には有意の差は認められなかった。しかし、分析法をかえて、F因子がマイナスになるものとプラスになるものが存在する割合を両群と比較したところ、差は危険率1%以下で有意と認められ、耐寒性の強いものには交感神経の優越者が多く、反対に耐寒性の弱い者には副交感神経優越者が多いと結論された。

終りに、国立公衆衛生院生理衛生学部田多井部長の御校閲と種々御協力をいただいた小川、浅野両技官ならびに陸上自衛隊富士学校衛生課長羽生二佐および課員の諸氏に厚く感謝の意を表するものである。

#### 文 献

- 1) 吉田敬一(1959)成年男子の自律神経緊張度について 国立公衆衛生院報告(印刷中)
- 2) 原島 進(1958)第6回寒気生理協議会資料
- 3) 田多井吉之介・長田泰公・小川庄吉・綱島清三・浅野牧茂・吉田敬一・広川章子(1958)第5回寒気生理協議会資料
- 4) 沖中重雄・葛谷信貞(1950)人体自律神経緊張度の測定について 日新医学 **37**, 1
- 5) Wenger, M. A. and Ellington (1943) The measurement of autonomic balance in children; method and normative data. Psychosom. Med. **5**, 241
- 6) Wenger, M. A. (1948) Studies of Autonomic Balance in Army Air Forces Personnel. Univ. California Press. **1**, 111
- 7) 葛谷信貞・由本正秋・西川光夫・山田喜久馬・安

- 芸基雄・堀家正也・椿 忠雄・林 哲生(1951)我々の行った Wenger 氏自律神経緊張測定法 日新医学 **38**, 385
- 8) 榑原よし (1955) 自律神経緊張状態に関する研究 (第1報) 日大医学誌 **14**, 455
- 9) 高田ふさ (1955) 自律神経緊張状態に関する研究 (第2報) 日大医学誌 **14**, 835
- 10) 佐藤椰子枝 (1955) 自律神経緊張状態に関する研究 (第3報) 日大医学誌 **14**, 1021
- 11) 白石信尚・太村雄三・赤尾 昭・秋池己代治・有村泰子・大恵栄子・小田翠子・森永和子(1955) 春季における思春期女子の自律神経平衡因子について 日新医学 **42**, 577
- 12) 小川 巖(1950) 肺結核患者の自律神経平衡状態に関する研究 結核 **28**, 361
- 13) 古閑義之・国又 好・長山秀雄・三寺 脩・村上豊次郎・野崎恒雄・斎藤益三(1957) Wenger 氏自律神経緊張状態測定法について 日新医学 **44**, 409
- 14) 白石信尚・長田泰公・小川庄吉・山田進弘・鈴木郁夫(1951) 基礎代謝の季節的変動と自律神経緊張状態との関係 季節生理第19回協議会報告
- 15) 原島 進(1956) 血液成分(血清 K, Ca 及び白血球百分率)の季節変動と自律神経緊張状態との関係 日本衛生誌 **11**, 1
- 16) 外山敏夫(1951) 血液成分の季節変動から見た自律神経緊張状態 日新医学 **38**, 181
- 17) 渡辺巖一・永井敏彦(1957) 季節と血清グルタチオン 日新医学 **44**, 28
- 18) 渡辺巖一・小林博子(1957) 季節と血液電解質 日新医学 **44**, 123

### Summary

Factor analysis for evaluating tonic shift in the autonomic nervous system was done on the basis of seven estimates taken in 72 service men in winter, i. e., volar galvanic skin resistance ( $Z_1$ ), sublingual temperature ( $Z_2$ ), systolic and diastolic blood pressures ( $Z_3$  and  $Z_4$ ), pulse rate ( $Z_5$ ), salivary secretion ( $Z_6$ ), and B. M. R. ( $Z_7$ ). The obtained formula for calculating F-factor was as follows:  $F = -0.020Z_1 + 0.116Z_2 + 0.374Z_3 + 0.487Z_4 + 0.112Z_5 - 0.005Z_6 + 0.082Z_7$ . From this formula, F-values was obtained in each of 72 cases. The distribution was nearly normal with the mean of  $-0.054$  and the standard deviation of  $0.853$ . The difference between cold-resistant and coldsusceptible groups was statistically significant as to those F-values corresponding with subjective grouping into two groups, suggesting that cold-resistant people are sympathicotonic and cold-susceptible people are parasymphicotonic as a whole.

(Department of Physiological Hygiene, Institute of Public Health)

# 尿中アドレナリン及びノルアドレナリンの化学的定量と

その応用に関する研究 612.461

## (第1編) アドレナリンとノルアドレナリン定量の基礎条件の検討

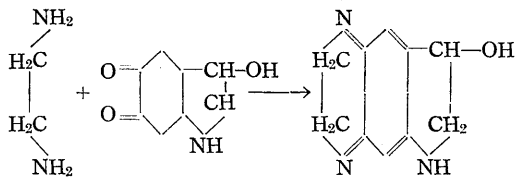
The Chemical Determination of Urinary Adrenaline and Noradrenaline and its Application to Environmental Physiology.

### 1. Basic Study for the Determination of Adrenaline and Noradrenaline with Lutin Method.

網 島 清 三 (TUNASHIMA-Seizo)\*

Adrenaline (以下 A と略す) と Noradrenaline (以下 NA と略す) の定量法は、古くは全く生物学的方法にたよっていたが、最近両者を化学的に定量する方法が発展してきた。しかし微量定量法の常として、どの方法にも種々の問題が内蔵されており、決定的な方法はないといえよう。このような現状の原因は、主として A と NA が化学的構造、化学反応、さらにまた生物学的反応からみてかなり類似した物質であるため、これを完全に分離した上で、測定するのが困難になるためであろう。しかしながら化学定量には実用上、非常に有利な点がある。とくに蛍光測定法は、蛍光計の設備さえあれば、操作も比較的簡単であるため、とくに最近急速に普及されつつある。この蛍光測定法では、A と NA が次の反応図型に示すように、その変化して生ずる強力な蛍光物質であるルチンの蛍光強度から、A と NA を定量する方法<sup>1)2)3)</sup> (ルチン法、あるいは trihydroxyindol 法)。

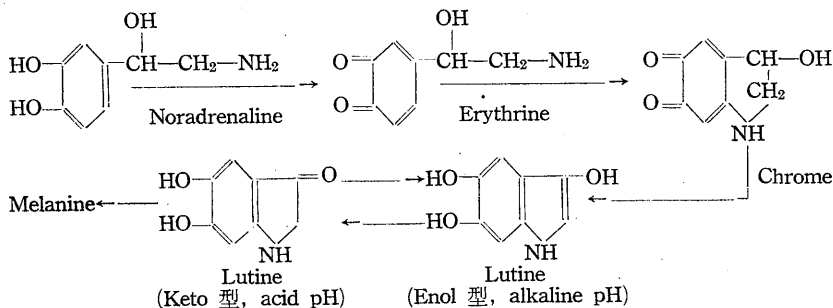
更に A と NA が酸素の存在下にエチレンジアミンと縮合して強力な蛍光物質を作る性質<sup>4)</sup> を利用し、A と NA を定量する方法<sup>5)</sup> がある。しかし、後の方法を用いた場合には、ドパミンも同じく蛍光を発するため、この点に注意しなければならない。



Ethylenediamine Noradrenochrome

しかし、前者のルチン法にも、いくつかの問題がある。とくに沃素で酸化する場合、中間体としてのヨードクロムの形成が見られるため、酸化剤の性能如何が当然問題になる。

そこで本報においては、主としてルチン法を採用したさい、酸化剤の種類を変えた場合の螢



\* 国立公衆衛生院生理衛生学部  
〔昭和34年8月24日受付〕



採り、水 1cc を加え、pH をそれぞれ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 に調整しさらに acetate buffer 2cc を加え、これを沃素法、MnO<sub>2</sub> 法、FeCy 法で各々 3 分間酸化させた。ついで 30% NaOH 溶液 9cc と 2% アスコルビン酸溶液 1cc との混液 1cc を加え、水で全量 10cc とする。そうして、MnO<sub>2</sub> 法で pH 4 の場合の A の蛍光強度を 50 として各々の蛍光を読んだ。得られた結果は第 1 図のとおりである。

この結果から見ると、A、NA ともに、沃素法による蛍光値が高くでている。そして、A は pH 4 付近から殆んど酸化され、それ以上の pH ではあまり変化がない。これに対して、NA は pH 6 付近で完全に酸化され、やはりそれ以上の pH ではいずれの酸化剤を使用しても、殆んど同じ値を示すようである。ただし FeCy 法のみは、pH 6 で NA の酸化が不十分になる。そうして、同一濃度に対しては、A の方が約 24~5% 高い蛍光値を示

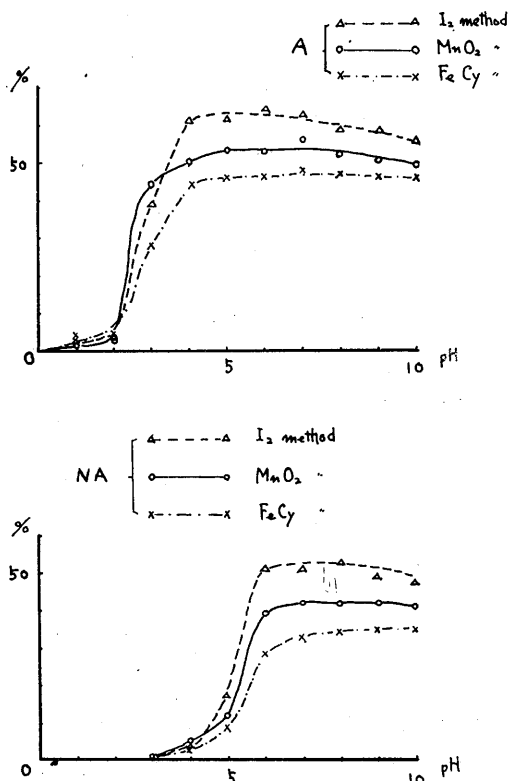


Fig. 1. Oxidation ratio of A and NA in various pH.

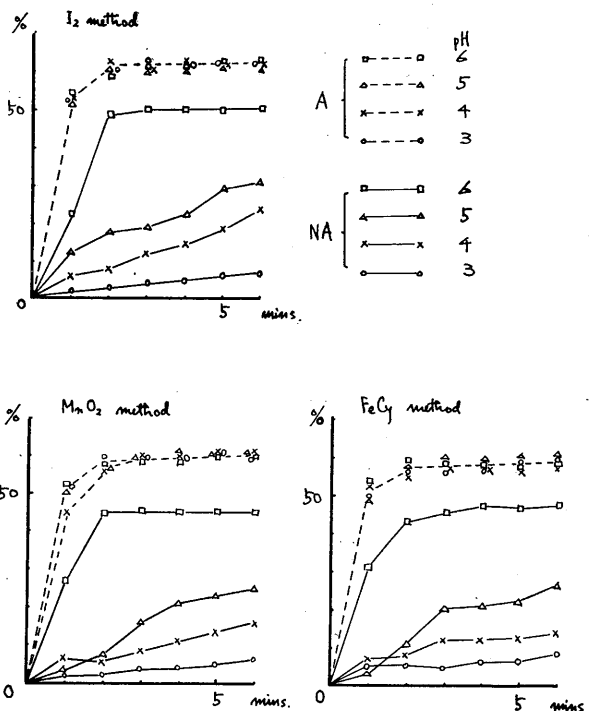


Fig. 2. Lutine formation ratio in various pH and in various oxidating time.

す。MnO<sub>2</sub> 法、FeCy 法ではすでに述べたように、いずれも沃素法に比較して蛍光強度が弱いため、微量の場合には、沃素法では蛍光を感じても、他の酸化剤では感じない場合もある。これは、沃素法で酸化したさいに生ずるヨードクロームと関係があるのであろう。

### 2) pH と時間の相異によるルチン形成率

同じく 0.1 $\mu$ g/cc 当りに調整した試料を、それぞれ 1cc 採り、水 1cc 加え、これを 3, 4, 5, 6 の pH に調整する。これに acetate buffer を 2cc 加え、さらに各酸化剤を加え、反応時間を各々 1, 2, 3, 4, 5, 6 分間となし、沃素を加えて、3 分間反応させた場合の pH 6 の A の蛍光強度を 50 として、各反応時間終了後の蛍光強度を読んだ。得た結果を第 2 図に示す。これを見ると、A はどの酸化剤を使用しても、pH 4~6 の範囲内で 1 分から 2 分の間に完全に酸化され、それ以上時間を長くかけても、変化は認められない。

NA は pH が低い場合には、酸化時間を長く

してもあまり意味がない。しかし pH が 6 になると急激に酸化され、いずれの酸化剤でも約 2 分で完全に酸化される(ただし  $MnO_2$  法では、酸化した後遠心して沈澱を除いたため、反応時間が正確に測定できず、結果を取除かざるをえなかった)。したがって、A と NA を酸化させるためには、反応時間よりも pH の調整の方が大切であるといえる。

3) 酸化剤の濃度と添加量との関係

a) 沃素法の場合: 0.002N, 0.004N, 0.006N, 0.008N, 0.010N の各沃素溶液を調整し A, NA の試料各 1cc を採り (0.1 $\mu$ g/cc) これに水 1cc 加えて、pH 6 に調整した後、acetate buffer 2cc 加え、ついで各沃素溶液を 0.05cc, 0.1cc, 0.2cc, 0.3cc, 0.4cc 加える。2 分間酸化を行なった後、同一濃度のチオ硫酸ソーダ溶液をやはり 0.05cc, 0.1cc, 0.2cc, 0.3cc, 0.4cc, 0.5cc ずつ加え、次いで 2% のアスコルビン酸溶液 1cc と 20% NaOH 溶液 9cc を加えて水で全量 10cc とする。これを八木式微量蛍光計で 0.002N- $I_2$  0.1cc 加えて酸化させた A の蛍光強度を 50 として、それぞれの値を読んだ。

b) FeCy 法の場合: 赤血塩の 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1.0% の各溶液を作り、これをやはり pH 6 に調整した沃素法の場合の試料と同じ試料に、それぞれ 0.05cc, 0.10cc, 0.30cc, 0.50cc 加えて 2 分間酸化させる。ついで同じくアスコルビン酸、苛性ソーダ混液を 1cc 加え、水で全量 10cc となし、0.25% の赤血塩溶液 0.1cc を加えた A の蛍光強度を 50 として、各々の蛍光強度を読んだ。

c)  $MnO_2$  法の場合: 酸処理した  $MnO_2$  を、やはり pH 6 に調整した沃素法の場合と同じ試料に、それぞれ 200mg, 400mg, 600mg, 800mg, 1g ずつ加え、硝子棒でよく攪拌し、直ちに遠心して、沈澱を除き、上清に同じアスコルビン酸、苛性ソーダ混液 1cc を加え、水で全量 10cc とする。200mg の  $MnO_2$  を加えて酸化させた A の蛍光強度を 50 として、各々の蛍光の強さを読んだ。得られた結果を第 3 図の a, b, c に示す。この結果から見ると、沃素法では 0.004N か

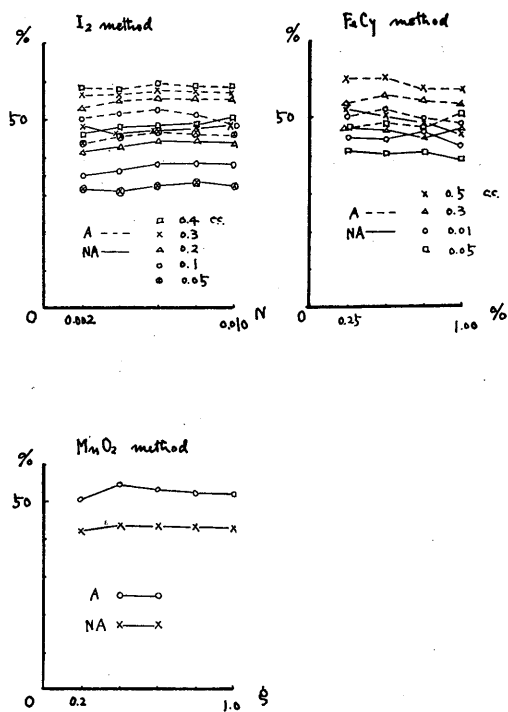


Fig. 3. Relation between oxidant concentration and its added volume.

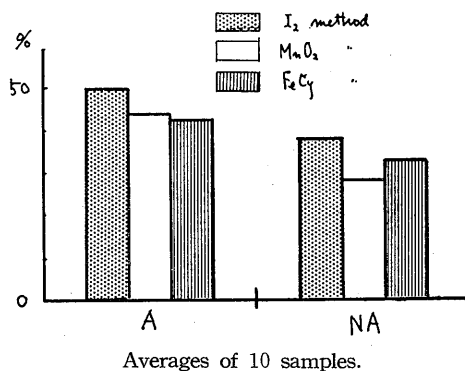


Fig. 4.

Intensities of fluorescence of A and NA by various oxidants.

ら 0.006N の間の濃度で、0.2~0.4cc 添加したときが一番酸化が良好であった。これに反して、FeCy 法では 0.25~0.5% の範囲の濃度で 0.5cc 加えた場合が一番良好であった。また  $MnO_2$  法では、400mg 程度の量が最も良好と考えられた。

そこで、以上に検討を加えた各方法のなかで一番良好と思われる条件によって A と NA を

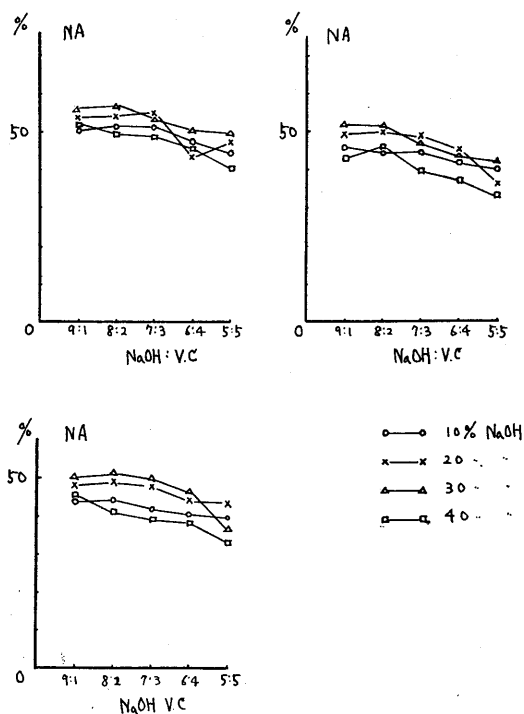


Fig. 5.

Correlation between NaOH concentration and V. C. volume.

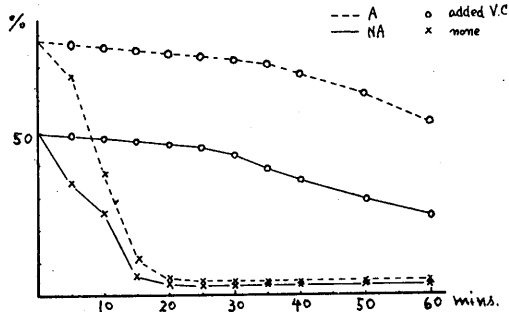


Fig. 6. Stabilities of lutines.

第1表  
温度の変化時における蛍光強度

温度 °C	方 法		
	沃素法	MnO <sub>2</sub> 法	FeCy法
5	49	44	42
10	48	44	43
20	50	46	43
30	51	48	44
40	53	47	45

酸化し、それぞれを比較してみた。その結果を第4図に示す。これを見ると blank の値を補正しない時は、MnO<sub>2</sub>法が一番蛍光強度が強いように見えるが、実際には MnO<sub>2</sub>自身の蛍光が酸処理しても完全に除去できず、blank の値を引いてしまうと、値はずっと小さくなる。したがって、やはり 0.004N-I<sub>2</sub>溶液 0.3~0.4cc 添加が一番良好な結果が得られた。これもやはりヨードクロームとなんらかの関係があるものと考えられるが、これだけのデータからはそれ以上の推定は不可能である。

#### 4) 苛性ソーダ溶液の濃度とアスコルビン酸の量との関係

試料としては、やはり 0.1μg/cc 濃度の NA 溶液を使用した。これを沃素法の場合と同様に処理し、それぞれ 0.004N-I<sub>2</sub>の 0.4cc, 0.5% 赤血塩溶液の 0.5cc, MnO<sub>2</sub>の 400mg で酸化させた。ついで10, 20, 30, 40の各%濃度の苛性ソーダ溶液及び 2% アスコルビン酸溶液を作り、これを、各濃度の苛性ソーダ溶液:2% アスコルビン酸溶液が 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, の割合に混じた混液に作った。そうして酸化終了の試料に、これを 1cc 加え、やはり水で全量 10cc とし、沃素法で 10% NaOH, 混合比 9:1 の蛍光強度を50として、それぞれの蛍光強度を読んだ。

この結果は第5図に示すように、苛性ソーダの濃度が 20~30% が一番よく、混合比は 9:1, 8:2 の場合は殆んど変りがないが、アスコルビン酸の濃度が 7:3 以上に増すと、蛍光強度が低下することがわかる。A も同様に測定したが殆んど同じ結果を示した。Oesterling<sup>6)</sup> はアスコルビン酸の濃度が 0.5mM 以上になると酸性溶液中で A と NA に対して破壊作用をしめすようになる」と述べているが、アルカリ性溶液中でも、多量に用いると安定剤としては不都合なことがわかった。

つぎに、沃素法で A, NA を発光させた場合、30% NaOH と 2% アスコルビン酸溶液の 9:1 の混液を加えた時と、安定剤としてのアスコルビン酸を加えず、30%NaOH溶液のみを加

えた時の2つの条件を作り、それぞれの蛍光の時間的な安定度をしらべたが、その得た結果を第6図に示す。

この結果をみると、A, NAともにアスコルビン酸を加えた時は、約20分間は一定の割合(5分間に2~4%)で蛍光が漸減し、発色後、直ちに測定に供すれば、大きい誤差は見られないが、アスコルビン酸を入れない時は、急激に蛍光強度が低下し、約20分で殆んどblankに等しい値に落ちてしまうことがわかった。

#### 5) 温度による変化

沃度,  $MnO_2$  赤血塩の各酸化剤を使用して各種温度(5°, 10°, 20°, 30°, 40°C)の下で酸化し、蛍光測定を行ない、温度による変化を見たが、通常の室温では、夏冬ともに影響がないことがわかった。その結果は第1表のとおりである。

#### 6) 標準曲線の作製

沃度を使用し、A, NAの各濃度を採り、蛍光発色させて、標準曲線を作製して、これを第7図に示す。この結果、各法でいずれも0.01~7 $\mu$ gの間の濃度で、きれいな直線になることがわかった。そうして、濃度が高まるにつれて、蛍光強度との比例が悪化する。すなわち、微量なA, NAの場合に、ルチン法では濃度と蛍光強度が比例するものである。しかし、このような関係は、 $MnO_2$  赤血塩を酸化剤として使用した場合にも、やはり似た結果を示した。

### IV. 要 約

1) A, NAの蛍光測定において、ルチン法を用い、 $I_2$ ,  $MnO_2$ ,  $K_3Fe(CN)_6$ という3種の酸化剤の適否を検討したが、沃素法が一番感度がよく、微量定量に堪えることがわかった。

2) 上記3種の酸化剤のいずれを使用しても、A, NAの濃度が微量な方が、濃度と蛍光強度が比例することが見出された。

3) A, NAを酸化させるためには、反応時間よりもpHの調整に注意が必要である。そして添加する酸化剤の濃度と量は、試料が0.1 $\mu$ g/cc程度の濃度ならば、0.004N- $I_2$ , 0.4cc附近が一番蛍光強度が高いことがしめされた。

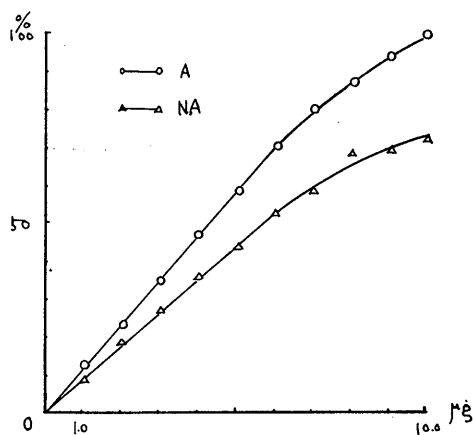
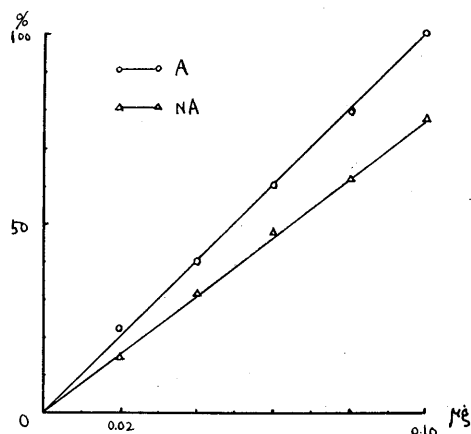


Fig. 7.

Standard correlation between intensity of fluorescence and concentration of A and NA.

4) アスコルビン酸を加えた場合のルチンの安定性は10~20分間で、それ以上の時間になると安定性は失われる。また温度による変化は極めて僅かで、夏、冬の室温で操作しても、その影響は無視してよい。

本実験については、終始、当学部長田多井吉之介博士の指導をえた。また学部員諸君とくに広川章子、春田清子両氏のご助力をえた。ここに深く謝意を表する。

### 文 献

- 1) Lund, A. (1949) Acta pharmacol. et toxicol. **5**, 531
- 2) Euler, U. S. V. & Floding, I. (1955) Acta physiol. Scand. **33**, Suppl. **118**, 45
- 3) Udenfriend, S. et al. (1953) Science, **117**, 663
- 4) Natelson, S., Lugovoy, J. K. & Pincus, J. B. (1949) Arch. Biochem. **23**, 157
- 5) Weil-Malherbe, H. & Bone, A. D. (1952) Biochem. J. **51**, 311
- 6) Oesterling, J. M. (1953) Abstr. Comm., XIX, Int. Physiol. Congress, Montreal.

### Summary

1. As to lutin method for fluorimetry of adrenaline (A) and noradrenaline (NA), the oxidation with iodine was found to be more sensitive than  $MnO_2$  and  $K_3Fe(CN)_6$ , and iodine was found to be most advantageous for this kind of micrometry. The more A and NA were diluted, the better correlation was found between concentration and absorption relationship.

2. For the suitable oxidation of A and NA, the careful control of pH was more important than that of reaction time. When samples contained  $0.1\mu g/ml$  of A or NA, the fluorescent intensity was found highest with 0.4ml of 0.004 N- $I_2$  as the oxidant to be added.  
prferable

3. The stability of lutin when ascorbic acid was used as a stabilizer lasted only from 10 to 20 minutes, and the longer duration in this treatment tended to destroy lutin. The effect of room temperature during whole treatment was negligible throughout all seasons.

*(Department of Physiological Hygiene, Institute of Public Health, Tokyo)*

## 尿中アドレナリン及びノルアドレナリンの化学的定量と

その応用に関する研究 612.461

### (第2編) 尿サンプルとしてのアドレナリン, ノルアドレナリンの定量法

The Chemical Determination of Urinary Adrenaline and Noradrenaline  
and its Application to Environmental Physiology.

2. A Study on the Problems Associated with the Determination  
of Catecholamines in the Urine.

網 島 清 三 (TSUNASHIMA-Seizo)\*

著者はすでに、本研究の第1編において、Adrenaline (Aと略称) と Noradrenaline (NAと略称) の化学的定量に関し、とくにルチンによる蛍光測定に必要な基礎条件について検討を加え酸化剤としては沃素がすぐれ、また安定剤としてのアスコルビン酸の働きに絶対的ではないことを明らかにした。

しかしながら、実際に尿中の A, NA を化学的に定量するには、そのコレクションの方法の良否、さらに尿中に存在する各種の阻害物質が問題になる。また、尿中から抽出したエキスは常に混合率の異なる A と NA を含むため、定量する前にそれらを分離するか、あるいは、混合体のままで両者を別々に定量するかが問題になる。コレクションの方法としては、従来、白土などの各種陶土<sup>1)</sup> や珪酸<sup>2)</sup> を用いて吸着させたり、透析を利用<sup>3)4)</sup> していたが、いずれも満足すべき結果が得られなかった。

しかし、Pitkänen<sup>5)</sup> は、はじめて尿をアルミナ ( $Al_2O_3$ ) で吸着させ、ついで酸で洗出した検体をルチン法で測定する方法を案出した。このコレクションの適否を判定するにも、種々の条件の検討がいるのは当然である。したがって著者は本編において、まず、この問題を検討した。ついで第2の A と NA の定量に関しては、まず、尿中でてくるカテコールアミンは、主として A, NA 及びオキシチラミンの3者であるが、ルチン法ではオキシチラミンが殆んど蛍光

を示さない利点に注目した。そうして、多数の試料をあつかう場合には、A と NA の pH の相異なるによる酸化率の差を利用して分離定量する方法が有利と考えられるので、ルチン法によるこの方法について、種々の条件を検討してみた。

もちろん精製エキス中に混在している A, NA をペーパークロマトグラフィーで分離する方法もあるが、この方法はまだ誤差が大きいといわれている<sup>6)7)8)9)</sup>。その他、濾紙電気泳動法による分離法<sup>10)11)</sup>、向流分離法<sup>12)</sup>、イオン交換樹脂を利用した方法<sup>13)</sup> などもあるが、かなり手数を要し、多数の試料を処理するためには不便であるとおもわれる。

#### I. 原理及び操作

A, NA は適当な吸着剤を使用すると、特異的にそれに吸着することはたしかである。たとえば Shaw はこの吸着剤として水酸化アルミニウムを用い<sup>14)</sup>、従来の陶土その他の吸着剤よりも優秀である点を証明した。しかし、この場合には、吸着操作後の液中に大量のアルミニウムを含むため、アセトン、アルコール混液でこれを除塩する操作が必要となる。したがって、抽出操作の複雑化とそれによる A, NA の損失という欠点がある。しかし、すでに述べたように近年は、1歩前進した吸着剤として、これに類似する酸化アルミニウム (アルミナ) が広く用いられているわけである。

A, NA はこのアルミナに pH 8~8.5 の間で特異的に最高に吸着されるという<sup>15)</sup>。そして、この

\* 国立公衆衛生院生理衛生学部  
〔昭和34年8月24日受付〕

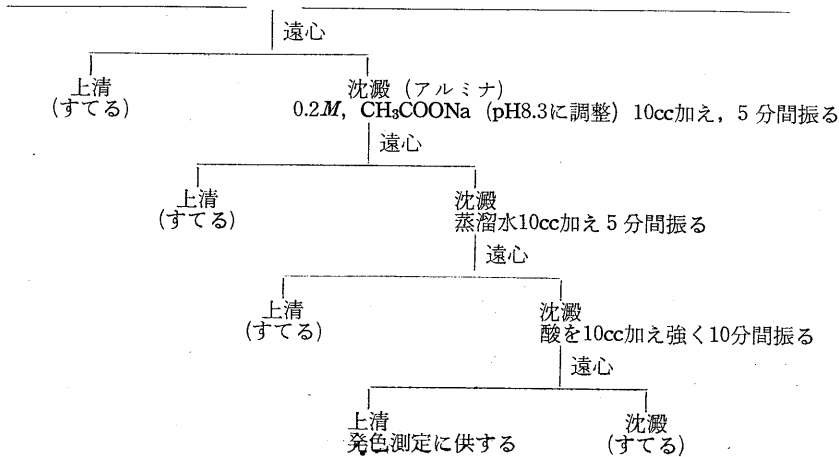
吸着した A, NA は無機酸, 有機酸にかかわらず, 酸により容易に遊離し, 洗出される。そして, この洗出されたエキス中には, A, NA が混在しているため, A, NA が定量できるわけである。そして, 前述のように多数の試料をあつかう場合には, これを夫々単独に分離して測定するよりも, そのままで区分定量を行なった方が便利と考えられる。しかし, アドレノルチンの蛍光スペクトルの極大は  $5400\text{\AA}$ , ノルアドレノルチンの極大は  $5200\text{\AA}$ <sup>17)</sup> にあって, 両者のピークが極めて接近しているため, その差だけを利用して分離定量することは困難である。そのため, 分離定量を行なうには, 通常 pH の相異なる A と NA の酸化率の差を利用する<sup>18)19)</sup>。すなわち, A は pH 3~7 の範囲で殆んど完全に酸化されるが, NA は pH 3 で約 5% しか酸化されず, pH 6~6.5 でよく酸化されるからである。そのさいの酸化剤としては, すでに第1編に述べたように, 沃素が適当と思えるので, 本編の尿中の A, NA の定量にさいして, 主として沃素を用いたわけである。まず, 24時間尿を型のごとく集め, これを酢酸か塩酸で pH 3 に調整し, 冷所に保存する。ついで, 10% EDTA 溶液 10cc 及び 1% フェノールフタレン溶液 1~2 滴を加えたビーカー内に, この尿サンプル 100cc

を採る。そこでアルミナ 2g を加え, マグネティックスタラー上で攪拌しながら, 20% NaOH 溶液を加え, 試験紙の呈色反応で検しながら pH を 7~8 附近まで持って行き, ついで 4% NaOH 溶液を注意して加えながら pH を所期の値に pH メーターにより調整する。そして, そのまま約 3 分間攪拌を続け, ついで再び pH を検しもし pH が下っていれば, 再度 4% NaOH 溶液で補正する。その後 2 分たってから, また pH を検し (この時はもう殆んど変化しない), 異常のないことを確かめてから 5 分間攪拌する。この攪拌終了後, 試料を硝子製共栓付遠心管に移し, これを第1表に示す操作順序に従って抽出する。

かくして得た上清から, おのおの 1cc ずつ 3 本のサンプルを採り, おのおの水 1cc 加え, 1 本を pH 4 に調整し, 他の 1 本を pH 6 に調整し, それぞれ acetate buffer pH 4 および 6 の 2cc を加え, 残りの 1 本は水 1cc acetate buffer 2cc 加えただけの blank として使用する。これに 0.004N-I<sub>2</sub> 溶液 0.4cc を加え, pH 4 のサンプルは 2 分間 pH 6 のサンプルは 3 分間酸化させ, 直ちに 20% NaOH 溶液 9cc 及び 2% アスコルビン酸溶液 1cc の混液 1cc 加え, 水で全量 10cc とし, 第1編に述べた方法に従って八木式微量蛍光計で測定することとした。なお, blank の

第1表 尿サンプルの操作順序

(上記) 尿 100cc (10% EDTA 溶液 10cc, フェノールフタレイン 1~2 滴およびアルミナ 2g を加える)  
20% NaOH, 4% NaOH 溶液で pH を調整 5 分間攪拌



処理も、すでに第1編に述べたとおりに処理した。ついで、得られた測値の処理を次のようにおこなった。

(計 算)

- f : スタンダード ( $\mu\text{g}/\text{cc}$ ), ブランク蛍光計の読み
- F : エキス, ブランクの蛍光計の読み
- $S_4$  : pH 4 の試料の蛍光計の読み
- $S_6$  : pH 6 の試料の蛍光計の読み
- $a_4$  : pH 4 の場合のA  $1\mu\text{g}$ 当りの蛍光計の読み
- $b_4$  : pH 4 の場合のNA  $1\mu\text{g}$ 当りの蛍光計の読み
- $a_6$  : pH 6 の場合のA  $1\mu\text{g}$ 当りの蛍光計の読み
- $b_6$  : pH 6 の場合のNA  $1\mu\text{g}$ 当りの蛍光計の読み
- x : 求めるAの濃度 ( $\mu\text{g}$ )
- y : 求めるNAの濃度 ( $\mu\text{g}$ ) として,

$$\left. \begin{aligned} (a_4-f)x+(b_4-f)y &= (S_4-F) \\ (a_6-f)x+(b_6-f)y &= (S_6-F) \end{aligned} \right\}$$

の連立方程式より x, y を求める。

II. 試 薬

1) 酸化アルミニウム (アルミナ)

アルミナ100gを2N-HCl500cc中に投じ、20分間沸騰し、上清を泻傾して除き、ついで熱2N-HCl 500ccでこれを洗い、さらに蒸溜水で  $\text{Cl}^-$  が出なくなるまで洗滌後、濾別し、 $300^\circ\text{C}$ で2時間乾燥する。これを真空デシケーター中に保存し、とくに防湿に注意する。

- 2) 10%EDTA (Disodium) 溶液
- 3) 1%フェノールフタレイン溶液
- 4) 20%苛性ソーダ溶液
- 5) 4%苛性ソーダ溶液
- 6) 0.2M-酢酸ソーダ溶液 (pH8.3に調整)
- 7) 1M-acetate buffer (pH4, 6)
- 8) 0.004N-沃素溶液

0.1N- $\text{I}_2$  溶液を調整し、用いの際でこれより0.004N- $\text{I}_2$  溶液を調整する。

9) 0.004N-チオ硫酸ソーダ溶液

0.1N-チオ硫酸ソーダ溶液を作り、用いの際で0.004N-チオ硫酸ソーダ溶液に調整する。

10) 苛性ソーダ, アスコルビン酸溶液の混液 10%, 20%, 30%, 40%, 50%の各種濃度の苛性ソーダ溶液. 2%アスコルビン酸溶液. これを使用直前に、必要な割合に混ず。

- 11) 各種濃度の酢酸, 蔞酸, 塩酸, 硫酸
- 12) A, NAの基準原液

III. 実験結果と考察

1) A, NAのpHの相違による吸着の割合

A及びNAはアルミナに特異的に吸着するが、その吸着の程度はpHに影響される。通常カテコールアミンはpHが8.5のときにアルミナに最大吸着を示すといわれているが、実際には製品の種類によって多少の相違があるようである。そこでメルク製活性アルミナ (200 mesh) と和光純薬製の活性アルミナ (300 mesh) についてその吸着状態をしらべた。

あらかじめ、10%EDTA溶液10ccと1%フェノールフタレイン溶液1滴を加えたビーカーにアルミナ20gと尿100ccを入れ、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10の各pHでアルミナに吸着させ、それを0.2M- $\text{CH}_3\text{COONa}$  (pH8.3)及び蒸溜水で洗滌し、0.3M- $\text{CH}_3\text{COOH}$ で洗出、沃度で酸化し、ルチン法で蛍光を測定した。StandardとしてAおよびNAの $1\mu\text{g}/\text{cc}$ の溶液を1ccずつ採り、これをpH4と6に調製(ガラス電極pHメータ使用)し、同じくルチン法により処理、測定をおこない、これより各試料の $\mu\text{g}$ 値を求めた(以下の各実験に於いても同じ)。

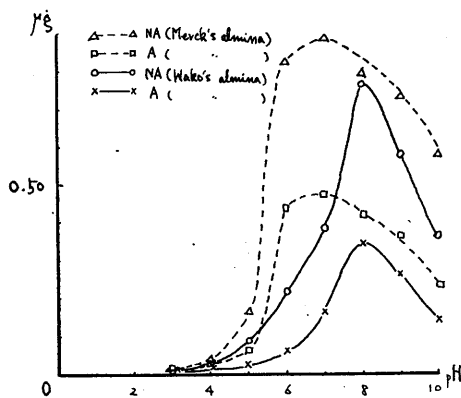


Fig. 1.

Absorption to almina of A and NA in various pH.

この結果を第1図にみるに、メルク製アルミナはpH7附近ですでに最大吸着を示し、pH9以上になると若干吸着能が低下している。また和光純薬製アルミナはpH8附近で最大の吸着

能を示しているが、やはり pH が高くなるにつれて吸着能は急速に低下している。

一般に異種の相が相接する場合には、両相中の物質は好んでその境界面に集積する傾向があるが、このような現象を通常吸着と称している。そして本実験の場合は溶液が固体に接したる界面における吸着現象である。そして、この場合の吸着現象を考えてみると、溶質の分子が固体の吸着体の表面、すなわち、カテコールアミンがアルミナの表面に吸着される現象であるが、これは普通溶質の分子と固体表面の分子あるいは原子との牽引力に基づくものと考えられている。この牽引力がいかなる性質のものであるかは、それぞれの場合によって異なり、一概には云い得ない。しかし、アルミナにカテコールアミンが特異的に吸着するというのも、やはり両者の間のなにか特異的な牽引力によるものと考えられるが、それ以上のくわしいことは現在まだわかっていない。しかしながら一般に見られるような弱い吸着は、簡単な分子間の引力によるものと思われる。すでに気体分子相互の間に引力のあることはオランダの Van der Waals 氏によって指摘せられ、同氏はこの仮定にもとづいて有名な Van der Waals の状態式を提出したが、通常の弱い吸着の原因となるものは、これと同種の分子間引力であると考えられている。そうすると、吸着に影響を与える因子として当然考えられるものに、アルミナの表面積がある。メルク製アルミナでは 200mesh、和光製のそれでは 300mesh であり、吸着能のいかに、このアルミナの粒子の大きさが関与していることが推察される。又アルミナの製法についても、メーカーによって、それぞれの特長と差異がある。そのため、製品の種類によりアルミナの表面積や酸、アルカリに対する抵抗性(酸やアルカリに溶け難いか否か)が異って、このような結果が出たのではないかと考えられる。

また、カテコールアミンはアルミナに吸着されると、アルカリ性でも比較的安定<sup>20)21)</sup>であるといわれるが、この結果からみると、必ずしもそうではない。

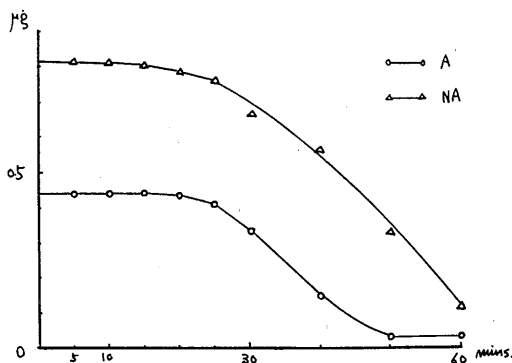


Fig. 2.

Stabilities of A and NA after absorption to alumina.

## 2) A及びNAのアルミナ吸着後の安定性

A, NAが pH 8 付近で吸着したさい、アルカリ性となっているので、当然安定性が問題となってくる。そのため、和光製アルミナを使用し pH 8.5 でカテコールアミンを吸着させ、これを各時間放置して後処理し、その安定性をみた。その結果は第 2 図のとおりで、吸着直後から 10 分後くらいまでの間では安定であったが、20 分後にはやや値が低下し、30 分後では相当量の低下、1 時間以後では高度に低下してきた。

これは、カテコールアミンとアルミナとの間における吸着関係が、通常の微弱な吸着関係にあり、賦活吸着の場合と異なるために、ある時間放置すると、いろいろの刺激その他の原因により、一たんはアルミナに吸着したカテコールアミンが再び脱離し、しかも溶液がアルカリ性になっているため、脱離したカテコールアミンが直ちに分解してしまうためではないかとも考えられる。しかし、又ドイツの Volmer が唱えたように、固体表面上にできている吸着層は、吸着が吸着分子と固体原子あるいは分子との間の化学結合に近い力によって行なわれているものすれば、吸着された分子は一平面上に並んでいる状態、すなわち単分子層を形成しているはずであるが、吸着された分子は固体表面上の 1 点に固着されずに、吸着層中を吸着体の面に沿って自由に動き廻っているため、溶媒がアルカリ性であれば、当然その影響を受ける可能性

が多く、そのため長時間放置すれば、アルカリのためにカテコールアミンが破壊される危険性が多くなることも考えられる。

いずれにせよ、吸着が起っている場合の吸着層の内部状況は、普通に考えられているように簡単なものとはおもわれないが、上述の結果からみて、とにかく、カテコールアミンをアルカリ性でアルミナに吸着させたら、直ちに処理することが望ましいわけである。

### 3) 洗出するために使用する酸の種類

アルミナに吸着したカテコールアミンは無機酸、有機酸のいずれを使用しても洗出される。しかし洗出に用いる酸のいかににより、洗出後の処理、とくに比色、蛍光測定に影響を与えてくる。そこでルチン法にもとづいてA及びNAを蛍光測定する場合に、どんな種類の酸を使用したときが一番結果が良好であるかを知るために、塩酸、硫酸、蔞酸及び酢酸を用いてカテコールアミンのアルミナ吸着後の洗出を行ない、その結果を第3図に示した。

これをみると、ルチン法によるカテコールアミンの定量法については酢酸が最も感度が高く、硫酸と塩酸はあまり良好な結果を示さなかった。蔞酸は有機酸ではあるが、時々洗出後の液が濁り、後の蛍光測定のとくに悪影響を与えた。

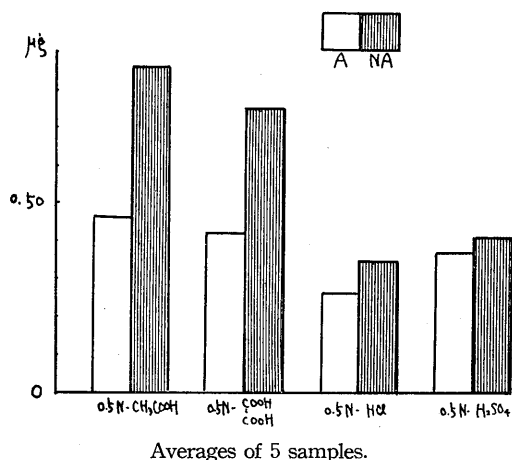


Fig. 3. Different efficiencies among various acids cleansing A and NA.

アルミナは熔融温度が非常に高く、2050°Cという高温であるが、強熱する前のアルミナは酸に溶解する。そして強熱して後、はじめて酸に不溶になる。ところが本実験に使用した通常の活性アルミナは、いずれも白色粉末状をしていたので、熔融点まで加熱していないものであることは当然考えられる。また、このアルミナを酸処理した後300°Cで2時間加熱したが、やはりこの程度の加熱温度では不十分で、そのために無機酸だとか蔞酸などで洗出するとき、若干溶解、上述のような結果が出たのではないかも考えられる。通常、実験に使用する活性アルミナは基本的にはアルミナを水洗し、炭酸ガスの気流中で200~230°C、2~3時間加熱処理して作った非結晶体であるが、この程度の加熱では酸に対する充分な不溶解性が得られないことは推察に難くない。以上の考察からみても、アルミナに吸着したカテコールアミンを洗出するには、無機酸は適当でないことがわかるが、これは実験の結果と一致する。また蔞酸を使用した場合に濁りが生ずるのも、蔞酸に対するアルミナの溶解性が特異的なためではないかと考えられる。

### 4) カテコールアミンの洗出に使用する酸の濃度

アルミナに吸着したカテコールアミンを洗出する際に使用する酸について考えた場合、まず最初に考えられるのは、どんな濃度の酸を洗出に用いたら最も効果的に洗出できるかという問題である。そこで各種濃度の酢酸と蔞酸を用いて、カテコールアミンの洗出を行なった。その結果は第4図に示すとおりである。

その結果をみるに、酢酸を使用した場合、濃度が0.2-0.8Nの間が洗出効果が一番良好で、蔞酸を使用した場合の洗出効果の一番良好な濃度の範囲は、酢酸に比較してせまい。また酸の濃度が高まると必ずしも洗出能も好良になるとはかぎらず、逆に幾分低下する傾向がみられた。人によると洗出するのに用いた酸の種類と濃度は0.2N-酢酸、0.25N-硫酸、0.5N-蔞酸などを、それぞれ使用しているが、本実験においては、

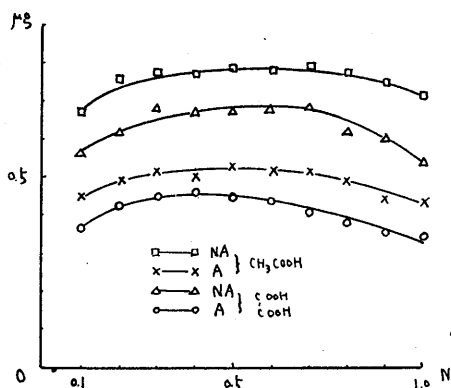


Fig. 4. Different efficiencies among various concentrations of acids cleansing A and NA.

硫酸は良好な結果を示さず、酢酸もあまり良いとは云えなかった、やはり用いた酸の濃度により、若干アルミナが溶解したものであろう。pH 8~8.5 の間でアルミナにカテコールアミンを吸着させ、0.25N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で洗出し、ほぼ80%の回収率を得ている例もある<sup>20)</sup>が、われわれの実験室では洗出に硫酸を使用した場合の回収率は、平均してせいぜい50~55%程度であり、得られた値にバラツキが多かった。

5) 回収率

本実験における定量の精度を知るために、尿100ccにA及びNAをそれぞれ5.0, 4.0, 3.0, 2.0, 1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1μgずつ加え、和光製アルミナを用いて、pH 8~8.5で吸着させ、0.5N-酢酸と0.5N-酢酸とで洗出し、その回収率試験を行なった。その結果を第2表にあ

第2表 A及びNAの回収率

添加量 (μg)	回 収 率 (%)			
	5N-酢酸		5N-酢酸	
	A	NA	A	NA
5.0	78 60 65	75 60 48	69 58 52	80 65 47
4.0	75 55 60	74 71 56	75 58 42	80 65 58
3.0	78 80 57	76 60 51	65 52 45	76 64 51
2.0	74 63 47	75 71 56	82 58 74	68 47 43
1.0	70 62 58	75 80 60	78 62 49	74 62 44
0.8	76 68 47	78 58 46	70 54 46	81 73 52
0.6	81 78 57	81 72 53	79 56 48	78 86 41
0.4	78 64 48	80 71 54	84 73 57	86 81 84
0.2	80 76 75	79 70 68	76 71 58	77 65 58
0.1	80 72 64	77 69 60	78 70 52	83 61 64
平均	68	67	63	66
標準偏差	6.6	5.0	7.2	8.5

げる。

その結果、0.5N-酢酸を洗出に使用した場合の方が、いずれも第2表にみられるように回収率は良好であったが、0.5N-酢酸を洗出に用いた場合には、得られた値にかなりのムラがあった。この結果から判断して、洗出ならびにルチン法による蛍光測定の場合にも、酢酸を使用した方が好結果をもたらすことがわかった。酢酸を用いた場合には、酢酸自身が蛍光測定操作の上で妨害をするためか、あるいは酢酸によって前述のようにアルミナ自身が若干溶解してくるためか、確定しがたいが、とにかく、いままでの結果からみて、ルチン法で蛍光測定を行なう場合には好ましくなかった。そして、それぞれの回収率如何は第2表の下段にみられるように、0.5N-酢酸で洗出したとき、アドレナリンは68±6.6% (平均±標準偏差, 以下同じ)、ノルアドレナリンは67±5.0%であり、0.5N-酢酸で洗出した場合には、その回収率はアドレナリンで63±7.2%, ノルアドレナリンで66±8.5%であった。

IV. 要 約

- 1) A, NA の尿中よりの分離定量には、吸着剤として使用するアルミナの種類により、吸着能の一番良好な pH が異なることが明らかにされた。
- 2) アルミナに吸着した A, NA は、アルカリ性に対して比較的安定だといわれていたが、吸着後には直ちに処理しないと、分離して不安定になることがわかった。
- 3) 吸着した A, NA を洗出するには、無機酸よりも有機酸、とくに酢酸が、後の蛍光測定操作を考えた場合有利である。このさい酸の濃度を高めても、必ずしも洗出能が高まるとはいえない。
- 4) A と NA の回収率は0.5N-酢酸で洗出した場合、A が68±6.6%, NA が67±5.0%で、あまりひどい乱れは見られず、この方法で、一応 A, NA の微量変化も見られるものと考えられる。

本実験については、終始、当学部長田多井吉之介博士の指導をえた。また学部員諸君、とくに広川章子、春田清子両氏のご助力をえた。ここに深く謝意を表する。

文 献

- 1) Schmiterlöw, C. G. (1948) *Acta physiol. Scand.* **16**, Suppl. 56
- 2) Whitehorn, J. C. (1935) *J. B. C.* **108**, 633
- 3) Lalwi, O. (1936) *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **273**, 504
- 4) Pekkarinen, A. (1948) *Acta physiol. Scand.* **16**, Suppl. 54
- 5) Pitkänen, A. (1956) *Acta physiol. Scand.* **38**, Suppl. 129
- 6) 佐藤 仁 (1955) *阪大医誌* **7**, 463
- 7) Weil-Malherbe, H. & Bone, A. D. (1954) *Biochem. J.* **58**, 132
- 8) Goldstein, M. & Abelin, I. (1956) *Helv. Chim. Acta.* **39**, 158
- 9) Griffiths, W. J. & Collinson, S. (1957) *J. Clin. Path.* **10**, 120
- 10) Weil-Malherbe, H. & Bone, A. D. (1957) *Biochem. J.* **67**, 65
- 11) Weil-Malherbe, H. (1956) *Lancet*, **11**, 282
- 12) Bergström, S., Euler, U. S. V. & Hamberg, U. (1950) *Acta physiol. Scand.* **20**, 101
- 13) Kirshner, N. & Goodall, M. (1957) *J. B. C.* **226**, 207
- 14) Shaw, F. H. (1938) *Biochem. J.* **32**, 19
- 15) Lund, A. (1950) *Acta pharmacol. et toxicol.* **6**, 137
- 16) Crawford, T. B. B. & Butshoon, A. S. (1951) *Brit. J. Pharmacol.* **48**, 618
- 17) Heller, J. H., Setlow, R. B. & Mylon, E. (1950) *Am. J. Physiol.* **161**, 268
- 18) Euler, U. S. V. & Floding, I. (1956) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **8**, 288
- 19) Euler, U. S. V. & Floding, I. (1955) *Acta physiol. Scand.* **33**, Suppl. **118**, 45
- 20) Euler, U. S. V. & Orwén, I. (1955) *Acta physiol. Scand.* **33**, Suppl. **118**, 1
- 21) Pekkarinen, A. & Pitkänen, E. (1955) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **7**, 1

Summary

1. Adrenaline (A) and noradrenaline (NA) in the urine were found to be differently adsorbed in relation to pH when two commercial brands of aluminum oxide were added to it as the adsorbent : For one brand the optimal adsorption was obtained in pH 8, while it was in pH 7 for the other.

2. Adsorbed A and NA as such were not so stable as ever considered generally. Thus, rapid treatment of the sample after adsorption seemed to be required in order to get accurate results.

3. For the elution of adsorbed catecholamines, organic acid such as acetic acid was more desirable than inorganic acid. The consideration of activity was less important for the elution.

4. With this procedure, the collections of A and NA in the urine was  $68 \pm 6.6$  per cent (mean  $\pm$  standard deviation) and  $67 \pm 5.0$  per cent. Thus, this procedure was thought to be satisfactory for some practical uses.

(Department of Physiological Hygiene, Institute of Public Health, Tokyo)

## 尿中アドレナリン及びノルアドレナリンの化学的定量と

その応用に関する研究 612.461

(第3編) 急性ならびに慢性の寒冷バク露における尿中

アドレナリンとノルアドレナリンの動態

The Chemical Determination of Urinary Adrenaline and Noradrenaline  
and its Application to Environmental Physiology.

3. On the Excretion Rate of Adrenaline and Noradrenaline when  
Young Men are Exposed to Acute and Chronic Cold.

網 島 清 三 (TSUNASHIMA-Seizo)\*

### I. 緒 言

寒冷バク露のカテコールアミンの動態に関しては、すでに Cannon のいう緊急反応の一環としての研究がいくつかある。しかしながら、それらの知見は、それぞれの研究者の採用した寒冷の条件の程度いかんによって、必ずしも一致をみていないようである。そこで、Von Euler はその著書において、これらの知見を総括して軽度の寒冷ストレスによっては、アドレナリンもノルアドレナリンも分泌を増さないが、激しい寒冷バク露によっては、アドレナリンはたしかに分泌をますと結論している<sup>1)</sup>。しかしながら、このアドレナリンの分泌増高をもたらず程度の寒冷ストレスにおいて、ノルアドレナリンもまた増高するか否かについては、その結論を差控えている<sup>1)</sup>。

そこで著者は、すでに別報した尿中アドレナリンとノルアドレナリンの化学定量法<sup>2)</sup>を用いて、この立場からすべて人体実験により、カテコールアミンの動態を検し、ついで慢性の寒冷バク露時の同じくカテコールアミンの動態をしらべ、最後に、とくにノルアドレナリンのそれについての結果に検討を加え、いささか意味ある知見を得たので、ここに報告することにした。

### II. 実験方法

第1実験：まず最初は健康な男子大学生を7名被験者として選んだ。そしてこれらの被験者を、おのおの対照実験1回、急性寒冷バク露実験1回を数日の間隔をおいて実施した。しかしながら、事故により2回目の実験に参加できないものがあったので両方の実験に参加した5名についての結果を用いた。寒冷実験の場合には被験者を前夜から室温29°Cに調節した人工気候室A室に宿泊させた。実験当日は8時にパンツ1枚の裸体にして仰臥させ、10時から12時まで2時間は室温10°Cに調節した人工気候室B室に同じくパンツ1枚の裸体のまま入室、仰臥させて寒冷にさらした。12時後は、16時までの4時間、被験者をA室にもどし、やはり裸体で仰臥のまま静かにさせて回復を計った。対照実験の日には、被験者を終始A室に仰臥させた。

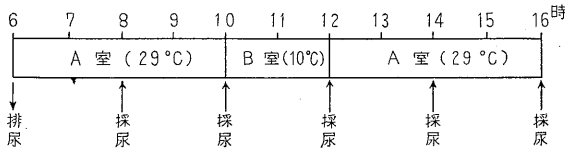
被験者には前夜18時30分にカロリー1033kcal、蛋白質49.8gの夕食を、当日の朝6時にカロリー707kcal、蛋白質17.4gの朝食を一定の献立にしたがって調理して与え、当日の昼食は与えなかった。

採尿は朝6時に排尿させてから16時の実験終了時刻までの10時間にわたって、第1表に示すように2時間毎5回に分割して行なった。そして各人から得た尿は、これを計量し、ついで個人差をなくし、直ちに各回毎の平均値をみる目的で、各回毎の尿を混じてプールした。

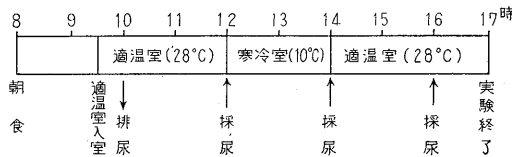
\* 国立公衆衛生院生理衛生学部

(昭和34年8月24日受付)

第1表 青年男子5名を用いての急性寒冷バク露実験の予定表



第2表 被験者8名での急性寒冷バク露実験の予定表



第2実験：またつぎに行なった寒冷バク露の実験においてはやはり健康な年齢22~24才の男子大学生8名を選び、実験前後の夕食と実験当日の朝食は、前者は摂りやすい一定の食事、後者はジャムとトーストに紅茶の食事と規定した。そして実験前々日より、飲酒映画見物などの日常生活と異なる生活リズムを一切もたないように注意した。

実験は各人2日、2週おきに2回行なった。この2人を同一実験日に、同時に寒温室に入室せしめて、寒冷にバク露した。実験当日は9時半来院、直ちに気温28°Cの適温室に入り、パンツ1枚の裸体となり、椅子位で安静にし、10時に実験開始、17時に終了した。その間に12時~14時の2時間、気温10°Cの寒温室に入室、これを寒冷ストレスの条件とした。採尿は第2表に示すようにまず、10時に排尿、その後、12時、14時、16時の3回、各人について行ない、得た尿を計量した。

第3実験：また慢性の寒冷バク露の際のカテコールアミンの動態をしらべるために、生体が寒冷に最も適応したと考えられる時期(2月)及び暑さに順化したと考えられる時期(8月)の2回にわたり、陸上自衛隊富士学校の隊員のなかより被験者を選び実験を行なった。しかしながら2月と8月の半年の期間の間に、移動、除隊などの事故があり両者を通じて実験対照にのぼった者は38名であった。被験者は早朝6時

に排尿させ(これは捨てる)、ベッドに安静に寝たままで必要な他の各種測定を行ない、8時半の朝食をすませた後また10時から身長、体重などの測定を行ない、その後は夕方まで勤務休みの条件で自由に、しかし静かにしていることを命じた。そして全日を通じて、自分のすきな時に排尿させ、ビンに蓄えさせた。そしてさらに翌朝の6時に最後の排尿を行なわせ、これも集め尿のサンプルをとった。要するに朝6時から翌朝6時までの24時間尿を、体をらくにした条件で集めたのである。そしてこの24時間尿を計量した。

このようにして得た尿は、いずれもカテコールアミンの安定性を保つために6N-HClでpH3になしてから、実験室に持ち帰り、すでに別報した尿中アドレナリンとノルアドレナリンの化学定量法にしたがい分析を行なった。

A, NAの定量法：上記3種の実験に用いた尿中アドレナリン、ノルアドレナリンの定量法についてすでに前報したとおりである<sup>2)</sup>。その大要は次のとおりである。尿をアルミナにpH7~8.5の間で特異的に吸着させた後、酢酸で洗出し、これをpH4と6でそれぞれ沃素で酸化してヨードクロームとなし、NaOHでアルカリとなして、ヨードクロームをルチンに変え、このルチンの蛍光強度を蛍光光度計で測定し、これよりpHの相異によるアドレナリンとノルアドレナリンの酸化率の相異からアドレナリン並びにノルアドレナリンの量を算出する。

### Ⅲ. 結 果

第1実験：まず急性の寒冷バク露した際の、被験者5名のプールした尿中のアドレナリンおよびノルアドレナリンの排泄量を第3表にかかげた。6~8時、8~10時の尿は寒冷に対する前値として1つに混じて測定したので、第3表では6~10時までのアドレナリンおよびノルアドレナリンの分泌量の平均値を示す。この実験に於ける温度条件は、人工気候室の適温室たるA室は乾球温度で平均29.0°C、湿球温度は平均26.0°Cで、そのため感覚温度は平均27.0°Cとな

第3表 急性寒冷バク露時における健常者の  
ブール尿 (青年男子5人のアドレナリン, ノ  
ルアドレナリン量の変動)

採尿時刻	寒冷バク露時	対照常温時
アドレナリン (μg/hr)		
6~10時 (室温29°C)	0.36	0.20
10~12時 (室温10°C)	0.89	0.27
12~14時 (室温29°C)	0.81	0.12
14~16時 (室温29°C)	0.26	0.29
ノルアドレナリン (μg/hr)		
6~10時 (室温29°C)	2.10	1.06
10~12時 (室温10°C)	4.58	1.15
12~14時 (室温29°C)	3.71	2.00
14~16時 (室温29°C)	1.42	1.53

った。寒冷室たるB室の室温は、感覚温度で平均9.3°Cであった。この実験において、尿中のアドレナリンならびにノルアドレナリンの排泄量は第3表をながめるとわかるように、対照の常温においた群では著しい増加を示していないのに、同一の寒冷にバク露した群では、すでに寒冷にバク露する前の6~10時までの間においてもアドレナリン、ノルアドレナリンの排泄量は増加している。そして10~12時の間のこれらの排泄量、すなわち寒冷にバク露した場合のアドレナリン、ノルアドレナリンの排泄量は、アドレナリン83%、ノルアドレナリン98%といずれも著明に増高している。そして寒冷室から出て、適温室にもどってもその直後、すなわち12~14時の間ではストレスとしての寒冷の影響が残っていて、アドレナリンもノルアドレナリンも未だ高い分泌値を示している。しかしながら、その後の14~16時の間の両者の分泌量は前値(6~10時)よりも低くなっている。対照群の方では、前にも述べたように6~16時の間を通じていずれの排泄量にも大きな変動は見られなかったが、ただ12~14時の間に於ける両者の排泄量が、アドレナリンでは減少し、ノルアドレナリンでは増加していることは注意すべきことだと考える。

第2実験：つぎに、被験者8名により、急性寒冷バク露を行なった実験についての、個々の尿中アドレナリンならびにノルアドレナリンの排泄量の変動を第4表に示す。ただし、この実験において、1名だけ尿の排泄の傾向が他の7名の傾向とはっきり異なった結果を示したの

第4表 急性寒冷バク露時の個人別尿中アドレナリン、ノルアドレナリンの排泄量の変動

採尿時刻	温度条件	被験者	アドレナリン (μg/hr)	ノルアドレナリン (μg/hr)		
10時	28°C	M. I.	1.80	0.88	0.90	1.18
		T. T.	1.29	0.59	3.35	1.69
		K. T.	0.32	0.87	0.22	2.47
		T. A.	0.28	0.60	0.28	1.70
		Y. I.	0.40	0.80	0.11	0.89
	12時	M. T.	1.34	0.37	0.76	1.30
		T. Y.	0.88	0.33	0.50	1.16
			0.90	0.63	0.89	1.19
			(0.77)		(1.04)	
12時	10°C	M. I.	0.90	0.67	3.37	1.15
		T. T.	1.75	0.69	4.55	1.01
		K. T.	0.92	1.50	1.40	2.07
		T. A.	1.16	1.28	1.30	2.80
		Y. I.	1.10	0.96	0.80	0.85
	14時	M. T.	1.80	1.32	1.20	0.49
		T. Y.	2.61	1.44	4.35	0.95
			1.46	1.17	2.43	1.34
			(1.32)		(1.89)	
14時	28°C	M. I.	1.74	0.40	4.43	1.40
		T. T.	1.25	0.30	4.15	0.78
		K. T.	0.79	0.27	0.11	0.51
		T. A.	0.58	0.47	0.23	0.64
		Y. I.	0.50	0.76	0.76	1.84
	16時	M. I.	0.72	1.02	0.41	0.12
		T. T.	0.69	0.49	0.96	0.61
			0.89	1.10	1.57	0.84
			(1.00)		(1.21)	

——はそれぞれの平均値。

( )内はくり返し2回の平均値を示す。

で、これは一応実験の結果を論じる場合に除いた。

この場合は寒冷バク露前の適温室が乾球28.2°C、湿球24.9°Cで感覚温度に換算して79°Fであった。これに対し、寒冷室は乾球10.2°C、湿球8.9°Cで感覚温度は50°Fであった。寒冷室へ入った後の適温室の温度条件は、乾球28.8°C、湿球24.7°Cで感覚温度は79°Fと寒冷室に入室する前の値と全く同一の感覚温度におさえることが出来たので、温度差による影響は全くないといえる。

得た結果をみると、個々のアドレナリンおよびノルアドレナリンの排泄は個人差が大きいが全体としてながめた場合、いずれも12~14時の間の寒冷にバク露した時にはくりかえし2回ともアドレナリンはそれぞれ62および86%の増加率、ノルアドレナリンはそれぞれ173および13%の増加率で排泄量が増加しているし、くりか

えし2回の平均値をとってみても、やはりアドレナリンは71%、ノルアドレナリンは82%の排泄増高をみている。そしてアドレナリンもノルアドレナリンも寒冷バク露後、ふたたび適温室に帰ってからは分泌が減少しているが、ノルアドレナリンの方が減少のしかたが少なく、まだ幾分か寒冷バク露の影響が残っているように思われる。

またこの第2実験において、アドレナリン、ノルアドレナリンならびに尿量の相関をみた。第1図はアドレナリンとノルアドレナリン、第2図はアドレナリンと尿量、第3図はノルアドレナリンと尿量のいずれも相関図である。これで見ると42例でアドレナリンとノルアドレナリンの排泄量は  $r=0.53$  ( $p<0.001$ )、アドレナリンと尿量は  $r=0.66$  ( $p<0.001$ )、ノルアドレナリンと尿量は  $r=0.52$  ( $p<0.001$ )、でいずれも有意相関であった。

第3実験：慢性の寒冷バク露の際のカテコールアミンの動態をみるために行なった富士学校自衛隊員を使つての実験では、次の如き結果が得られた。第5表は慢性寒冷バク露の際の尿中のアドレナリンおよび、ノルアドレナリンの排泄量を夏季冬季にわけて示したものである。これで見るとアドレナリンの排泄においては、やはり個々の値は変動があるが、平均値では冬季と夏季でそれぞれ  $6.4\mu\text{g}/24\text{hrs}$ 、 $5.2\mu\text{g}/24\text{hrs}$  で季節の相異による排泄量の有意差は認められなかつ

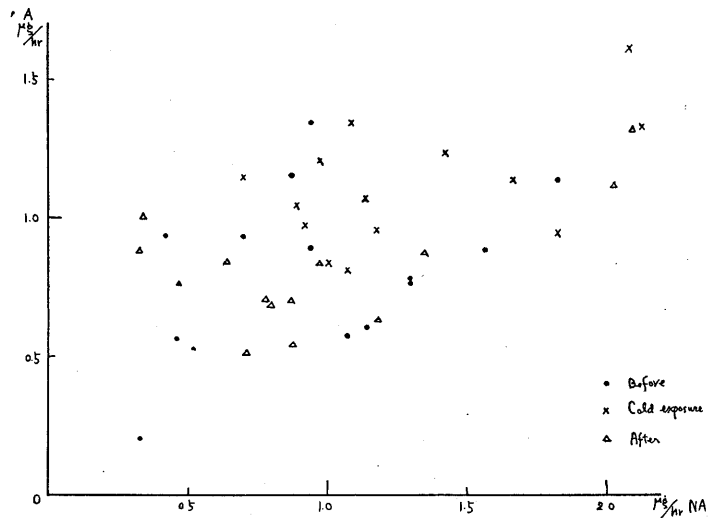


Fig. 1. Correlation between A and NA in the second experiment.

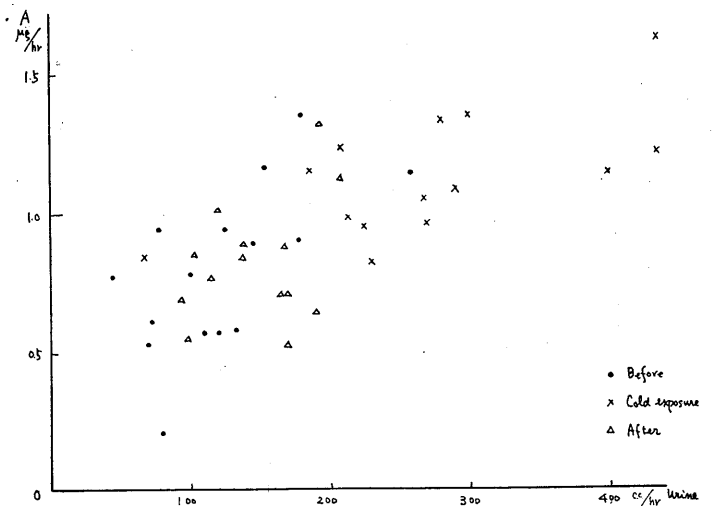


Fig. 2. Correlation between A and urine volume in the second experiment.

た。ノルアドレナリンについても同じように、冬季  $15.6\mu\text{g}/24\text{hrs}$ 、夏季  $16.7\mu\text{g}/24\text{hrs}$  でやはり季節の相異による有意差はみられなかつた。ただ排泄の傾向として、アドレナリンは冬季から夏季へかけて減少する傾向にあるが、ノルアドレナリンは逆の傾向を示した。そして、ノルアドレナリンとアドレナリン、ノルアドレナリンと尿量およびアドレナリンと尿量の相関をみたが、いずれも有意な相関係が認められ

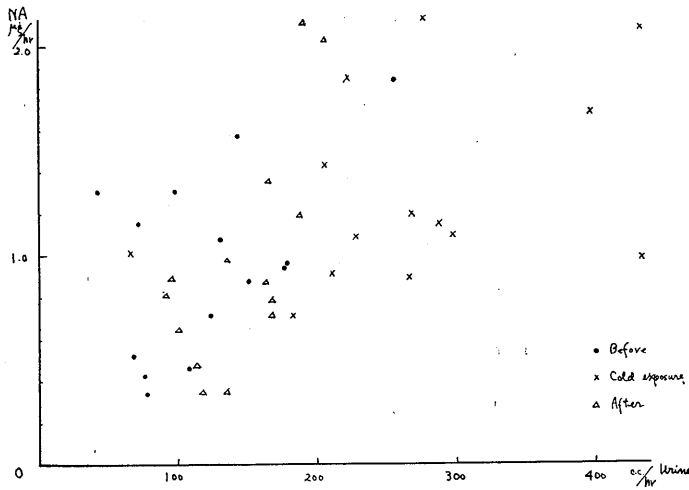


Fig. 3. Correlation between NA and urine volume in the second experiment.

第5表 慢性寒冷バク露時の尿中アドレナリンとノルアドレナリンの排泄量

被験者番号	アドレナリン (µg/24hrs)		ノルアドレナリン (µg/24hrs)	
	冬季	夏季	冬季	夏季
No. 1	9.5	9.0	11.6	36.1
2	5.0	1.8	8.4	9.2
5	1.6	14.9	4.3	30.2
7	0.5	2.5	32.9	13.2
8	0.8	2.9	9.2	19.3
10	1.0	5.2	41.5	17.7
11	0.5	7.8	2.9	18.8
12	1.1	6.2	22.3	34.0
14	3.6	3.3	28.5	25.9
16	3.5	4.2	17.5	17.8
22	14.8	5.5	10.4	8.5
23	2.5	4.6	29.4	6.4
24	11.7	4.6	8.2	11.5
25	8.4	9.3	22.3	13.5
26	5.4	9.0	15.4	26.7
28	2.2	2.9	6.7	6.9
29	6.9	2.9	10.3	7.1
30	13.5	7.9	4.0	9.2
33	6.7	4.5	3.6	10.9
101	9.8	6.4	7.7	11.8
102	20.9	3.3	20.9	12.5
103	3.3	2.6	5.3	6.4
104	18.3	15.8	18.3	27.8
106	12.3	1.8	17.6	14.9
108	19.4	4.2	27.2	17.4
110	4.7	4.4	12.6	9.7
111	3.8	5.8	19.8	24.4
113	0.6	2.9	20.4	12.4
114	2.2	3.0	8.8	10.3
115	9.3	10.3	1.9	16.3
117	5.9	2.0	8.6	13.2
121	0.8	3.6	7.5	16.4
122	6.4	3.3	3.2	15.7
124	7.8	5.5	23.4	22.5
126	6.1	4.0	7.5	25.0
127	2.1	0.8	28.7	13.9
133	5.4	3.0	18.1	17.8
135	3.7	4.2	44.3	22.3
平均	6.4	5.2	15.6	16.7

なかった。

#### IV. 考 察

今迄に、アドレナリンおよび、ノルアドレナリンの分泌量が寒冷ストレスによって増加するであろうということは、多くの生理的機能、ことに自律神経平衡状態の諸指標の寒冷による変化<sup>3)</sup>や、それらの季節変動<sup>4)5)</sup>から推定はされているが、実際にそれらの分泌量を測定したデータはほとんどみあたらない。ただ

僅かに、イヌを用いて、胃のなかに冷水をいれて強いてふるえを起こさせても、副腎からのアドレナリンの分泌ははっきりあらわれなかったが、冷水に浸して動物の全身を冷却すると、アドレナリンの分泌が増高したという報告<sup>6)</sup>と、血中のアドレナリン量を推定することができる<sup>7)</sup>とされている血中ヨード酸値が冬季に高く、夏季に低いことをみた報告<sup>7)</sup>があるくらいのものである。

本研究で得られた知見では、被験者を急性の寒冷にバク露した際は、第1実験、第2実験のいずれの場合も明らかに著明なアドレナリンならびにノルアドレナリンのとくにノルアドレナリンの排泄増高をみたが、第3実験での冬季と夏季との間におけるそれは、明らかな相異は認められなかった。

筋労作やストレス時の副腎髓質からのノルアドレナリンおよびアドレナリンの分泌に対する効果は労作量にはよらず、主として疲労やストレスの程度に左右される<sup>8)</sup>という。そして軽度の筋労作では副腎髓質の分泌増加はほとんど起らない<sup>9)</sup>し、また弱い寒冷の場合にもアドレナリンもノルアドレナリンもともに分泌量が高めないという<sup>1)</sup>。そして激しい筋労作や強い寒冷ストレスによって、はじめてこれらのカテコールアミンが増加するという<sup>1)</sup>。しかし、それは

あくまで定性的にみたのにすぎなかった。

著者のおこなった実験においては上に述べたように急性寒冷バク露の場合はいずれの場合もそれぞれアドレナリンが83%と71%、ノルアドレナリンが98%と82%との排泄増高を示して、明らかに副腎髄質機能の増進を示している。それに反し冬季と夏季の2回にわたりアドレナリンならびにノルアドレナリンの排泄量を測定した結果では、平均値として前者も後方も季節の差による有意差を認めなかったということは、夏季と冬季の間に長い期間が存在し、その間に徐々に寒冷に順化していくので、それは一種の持続的な弱い寒冷のストレスと考えてよく、そのために副腎髄質からの分泌の季節による相異が認められないと推定できる。

これで見ると、カテコールアミンの分泌に関していけば、神経でいう閾値的なものがあり、その閾値をこえた場合には、はじめて放出が起るように思われる。したがって、すくなくとも寒冷バク露の際のカテコールアミンの分泌様式は不連続的であるといえる。すなわち人体における寒冷バク露時の副腎の役割は、急性バク露時はもとより、慢性的な寒気バク露時にも、寒冷を直接のストレス作因として、不連続なカテコールアミンの分泌増加をもって対応するというこ

とができる。

被験者8名で急性寒冷バク露をおこなった第2実験では、同時に脈拍数その他も測定したがそれとアドレナリンおよびノルアドレナリンの排泄量との関係を第4図に示す。この図をながめて明らかなように、アドレナリン、ノルアドレナリンの排泄増高時には脈拍数は低下している。この事実はNAとヒトの静脈内に緩やかに連続注入すると徐脈がおきる<sup>10)11)12)</sup>という事実と一致する。すなわち、この実験で明らかに寒冷バク露時に脈拍数が低下していることからノルアドレナリンの寒冷バク露時における分泌増高が認められた。

アドレナリンとノルアドレナリンの排泄量と利尿作用に関しては、単位時間あたりの排泄量は、利尿作用にほとんど全く無関係にある<sup>1)</sup>ようだという説もあるし、またノルアドレナリンの利尿におよぼす効果は一定せず、すなわち減少<sup>9)</sup>あるいは不変化<sup>10)</sup>であるともいうが、著者のおこなった実験では慢性寒冷バク露の際はアドレナリンおよびノルアドレナリンと尿量との間にはいずれも相関係が認められなかったが急性の寒冷バク露時においてはアドレナリンとノルアドレナリン、またそれらと尿量との間にはそれぞれ有意な相関係が認められた。これより考えるに、弱い寒冷ストレス時には尿量の増加も著明でなく、そのためカテコールアミンの排泄と尿量との関係は表面上は無関係に現われるが、実際には尿量とカテコールアミンの排泄には弱い相関があり、急性寒冷バク露時のように尿量が明らかに増高し、有意差を示すようになるとその相関ははっきり現われるのではないかと考えられる。しかし、尿量対尿中カテコールアミンの排泄量の問題に対しては、さらに一層の検討を要する点が多々あるように見受けられる。

#### V. 要 約

1) 若い健康な青年男子を被験者として選びパンツ1枚の裸体にして10°Cの寒冷室に2時間さらした際、尿中のアドレナリンとノルアドレ

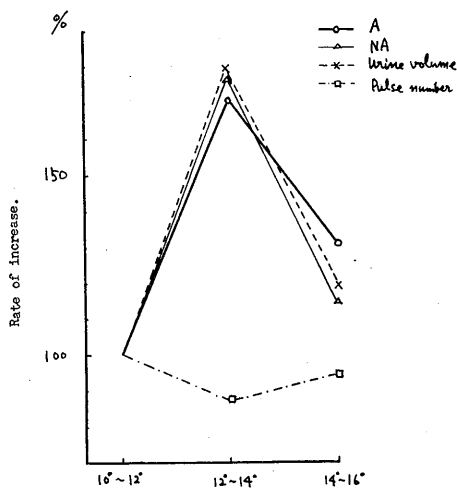


Fig. 4.

Variation of averages of A, NA, urine volume and pulse number in the second experiment.

ナリンの排泄は対照に比較して平均値で約アドレナリンが77%, ノルアドレナリンが90%の増高を示した。しかしながら, 自衛隊員を用いての冬季と夏季の慢性の寒冷順化の実験では, アドレナリンも, ノルアドレナリンもいずれも2シーズン間において排泄にはっきりした差が認められなかった。

2) 急性寒冷バク露の際にはアドレナリンならびにノルアドレナリンの排泄量と尿量との間には有意相関がみられたが, 慢性寒冷順化の時にはみられなかった。

本実験を行なうにあたり, 終始適切なる御指導をいただいた当学部長田多井吉之介博士に厚く感謝すると同時に, 学部員諸君, とくに種々協力をいただいた広川章子, 春田清子両氏に深く感謝します。

## 文 献

- 1) Von Euler, U. S. (1957) Noradrenaline, 田多井吉之介, 網島清三訳, ノルアドレナリン
- 2) 網島清三 (1959) 日本生理誌 **21**, 1242, 1249
- 3) 田坂定孝 (1951) 体温 日本生理学会編 生理学講座 **II (V): 1**
- 4) 原島 進 (1950) 環境衛生学 南壮堂 東京
- 5) 原島 進 (1953) 日新医学 **40**, 574
- 6) Wada, M., Seo, M. & Abe, K. (1935) Tohoku J. Exper. Med. **26**, 381
- 7) 鳥井敏雄 (1953) 医学のあゆみ **15**, 331
- 8) Wada, M., Seo, M. & Abe, K. (1935) Tohoku J. Exper. Med. **27**, 65
- 9) Houssay, B. A. & Molinili, E. A. (1925) C. R. Soc. Biol. **93**, 884
- 10) Barcroft, H. & Konzett, H. (1949) J. Physiol. **110**, 194
- 11) Goldenberg, M. Pines, K. L., Baldwin, E. F., Greene, D. G. & Roh, C. E. (1948) Am. J. Med. **5**, 792
- 12) Kappert, A., Sutton, G. C., Reale, A., Skoglund, K. H. & Nylin, G. (1950) Cardiologia, **5**, 121

## Summary

By the acute exposure of healthy young males to severe cold (10°C, nude, 2 hrs.), urinary excretion of adrenaline and noradrenaline was increased roughly 77 and 90 per cent in the average compared to the control period, respectively. However, the urinary excretion of both adrenaline and noradrenaline in healthy servicemen was not different in two seasons of winter and summer, the comparison of which practically assumed to reflect chronic exposure. The implication of those results discussed, particularly with respect to emergency reaction.

(Department of Physiological Hygiene, Institute of Public Health, Tokyo)

## 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

#### 26. 中島 大 (京大第2生理)

##### 大腸菌体内生活基本単位に及ぼす酸化作用の影響

演者は超音波作用の生体生機に及ぼす影響の本態を闡明する研究として、茲にはからずとも供試資料生体たる大腸菌体構成原形質の微細構造と生機とに対する酸化作用の追及から、酸素ポンドの生体に及ぼす本質を窺い得る様な事実遭遇したので、之を生体基本小体論の立場から解明し得ることを報告して批正を乞いたい。

今回は超音波の酸化抑制方法に就いて特に研究の重点を置いて考察を加え、演者等の検索した種々の酸化抑制剤存在下に於ける大腸菌の破壊と生機発現の能否とをば、其の破壊細片の増殖能を示標として検索することにしたものである。

超音波の酸化抑制方法としては、笠原・雄山等の Gellatin 法と演者等の考案による Gellatin, Ether, Methyl-Alcohol, Cystein 等の抑制方法を比較検討しつつ試みた。超音波の酸化抑制作用が十分に行われるか否かが、笠原・雄山実験追試問題成否の鍵とみななければならぬものである。従って吾々は超音波の機械的作用と酸化作用の分離(即ち酸加抑制)なる事に力を入れ追試の批判を試みたのである。

其の実験結果の要点を挙げれば、超音波の酸化抑制に於ては、1)細胞以下のかかなり小さい order の細片に迄生機が存在すること、2)生活基本小体論から観て酸素は生体生機にとって恐るべき微細構造の破壊乃至歪曲作用のある事である。

又吾々の諸成績からみて、超音波酸化抑制剤の濃度で(殊に Gellatin に於いては)菌体破壊作用が大いに異なる結果が窺われ、in vitro の酸化抑制作用と in vivo のそれと異なることがある等の事実が新たにわかったのみならず、その中超音波の生体組織破壊作用には生体破片が小になる程、酸素の生命破壊作用が利く様になることがわかった。又酸化抑制剤の性状に依っても破壊後の増殖

能に種々の影響がある事実を Chamberland の濾過実験から説明を加えたいと思うが、これ等の酸化抑制実験上の知見の増加にも増して強調し度いことは、細胞内極微生命存在に対する検証追試の決定版とも看做し得る検索を為し得たことを信ずる。更にその理由として生活基本小体論の理に立って酸素ポンドの生体生機の本質に対する生機学的意義の一端を窺知することが出来たことを俤とするものである。

#### 27. 松下 宏・奥 喬・三木国典 (和歌山医大生理)

##### 菌細胞分裂阻害の回復現象に関する一考察

静止再活性化現象(Preservative restoration)や可視光線の Pre-illumination 効果の存在から、紫外線照射直後一定期間菌体の代謝活性を低下させておく事が、或る程度菌体を死滅から防禦する方法であると考えられる。これは Unbalanced growth を抑制せしめる事に基因するのであるが同時にこの間に紫外線によって作り出された傷害を何らかの方法で除去するメカニズム(これは菌体自体に備えられておらねばならない)が進行するものと考えられる。今回演者らは、各種の阻害剤の静止再活性化現象への影響、並びに被照射菌の代謝活性をこれらの薬剤で抑制せしめた場合のコロニー形成菌数の変化を観察し併せて菌細胞に備えられた回復過程に対する阻害剤の影響を観察した。その結果 KCN, NaF, Dinitrophenol, NaN<sub>3</sub> 及び Chloramphenicol においては薬剤が不可逆的に菌細胞に働きかけない限り、これら薬剤の存在下で著明な回復現象が認められた。そして正常菌の増殖過程への影響に比して、これら薬剤の紫外線照射後 1~3 時間内に 37°で行なわれる回復過程への影響は、はるかに僅少である事を確めた。更に検討を加えねばならないが以上の結果から紫外線照射菌の回復には一応、非酵素的な過程が重要視される。しかし一方 Pyruvate 等の Metabolite が静止再活性化現象を促進する事実があり、一概に

は非酵素的な説明では充分に理解する事は出来ない。次に一般に B/r 株においては、紫外線照射菌の静止再活性化現象は認められていないのであるが、燐酸塩緩衝液浮游の温度を 37° から 42° に高めると明らかに認められる事を知った。このよう

に DNA 合成能が著明に抑制される程度に紫外線を照射された菌体においても静止再活性化現象が認められ、しかも比較的高温を必要とする事は回復現象の解明上甚だ興味深い現象である。

### 第128回生理学東京談話会

時 昭和33年10月25日(土) 13時~18時

所と当番 東京医科歯科大学 山極一三・勝木保次・島本多喜雄

#### 1. 三瓶 司 (群馬大第1生理)

##### 神経線維の太さと伝導速度の関係に就いての模型実験

神経線維の興奮伝導速度と太さの関係に就いては多くの実験と論議が繰り返えされたにもかかわらず未だその真相に達していない様である。

演者は神経線維を円柱状のものに見做し太さが変わればその内容積と興奮面積の比が変わるのでこの変り方が神経線維の場合と同様な割合で変る様な電気化学的興奮模型を用いて太さと伝導速度の関係を知るための基礎的資料を得んとした。

実験の材料には秋山の模型、秋山の模型を変形した Saltatory conduction model 及び山極-Lillie の模型を用いた。秋山の模型の場合には鉄の細長い矩形の平板上に硝子壁を設け両端を塞ぎ液がもれない様にした後その中に溶液を入れた。この際底面の鉄板は平板であるが円柱の表面をかこむと考えた場合その円筒の内容積に相当する体積、即ち核の巾を  $W$  その長さを  $l$  とした時その内容積  $V$  は  $V = \left(\frac{W}{2\pi}\right)^2 \pi l = \frac{W^2}{4\pi} l$  となり核の巾を種々にした場合それに相当する  $V$  を求め実際にはそれに一定の係数  $K$  を乗じた液量を溝の中に満した。Saltatory conduction model 及び山極-Lillie の模型の場合にも液量と核の巾の関係は同様にした。核を浸す溶液は秋山の模型及び Saltatory conduction model の場合は  $\text{AgNO}_3$  溶液に (2~4%) 少量の硝酸を添加したものをを用い実験によってはその中に溶液の電気抵抗を小さくする目的で中性塩 ( $\text{NaNO}_3$ ) を一定量溶解した。山極-Lillie の model の場合には化学用濃硝酸と  $\text{AgNO}_3$  溶液 (2~4%) とをたとえば 8:2 等の割合で混じたものをを用いた。又核の一端を亜鉛で刺激して興奮波がそこから出発して他端に到達するまでの時間を Stop-watch で測定しこの値から伝導速度を算出した。

以上の如き方法により得られた結果を要約すると

1) 何れの模型を用いた場合にも核の巾のある値で伝導速度は極大になりその前後の値で小さかった。

2) 全体として伝導速度が増大した場合には極大値が現れる点は巾の大きい方に移動した。

斯様な結果に就いて論議考按した結果神経線維等に於いて太いものほど伝導速度が大で又最近知られた心臓条片の場合の如く太い場合にかえて伝導速度が小であるのはこれらの値が極大値の両側にあるからであろうこと、而して今日まで神経線維に於いて太いものほど伝導速度が大であることに就いてなされた説明は広い範囲には適用し得ないものであり斯様な現象を統一的に説明し得る理論は未だ明かでなく将来に残された重要な問題であろうと結論した。

#### 2. 松本政雄・小泉広和・森川襄治 (群馬大第1生理)

##### 電極の形、太さ等と動作電位の形に関する模型実験

神経線維等に就いては誘導した動作電位の形から判断する以外にその興奮乃至興奮伝導の状況を知る直接的方法がない。斯様な場合には導かれた動作電位の形から如何にして興奮、乃至興奮伝導に関する絶対的の状態或いは相対的変化の程度を適格に知る事が出来るか仲々困難な問題が含まれるであろう。

そこで余等は電気化学的興奮模型に於いて興奮波の伝導状況を直視しつつ之等が不変に保たれる場合に於いて、電極の太さ、形並びに之と核との相対的位置及び2つの電極を用いた場合には電極相互の位置及び核に対する位置等を種々に変えた場合に就いて動作電位を誘導し斯様な問題に対する参考資料を得んとした。

実験には鉄線と銀線を平行にならべその両端を接着しその部を Modelling compound で被覆してこれを硝酸中に浸した所謂松本の神経模型を用いた電極としては種々の太さ(直径2~12mm)の炭素棒及びそれ等の炭素棒の側面を絶縁物で被覆して先端のみを有効部分としたもの、銀線(太さ直径1mm)を種々の長さ及び形にしたもの等を用いた。

又誘導方法には核自身と1つの電極とから単相性誘導を行った場合、2つの電極を用いて2相性に誘導した場合及び無関電極として炭素棒或いは銀線等を用いた場合等があった。

得られた結果を要約すれば興奮波の伝導状況は不変であっても、電極の形、太さ、位置等の変りで或いは予想された如き、或いは予想外の変り方等が示され、神経線維等の場合の如く興奮波の状況を唯働作電位の形等からだけで判定しようとする事は容易ならぬ事であり、斯様な場合には極めて慎重でなければならぬであろう事が結論された。

### 3. 山田 守・坂田三弥・熊野千太郎・田本博猛 (鳥取大第1生理)

#### 歯牙及び其の周囲組織よりの求心性衝撃について

歯牙歯根膜、歯髓及び歯齦よりの efferent impulse を誘導して次ぎの結果をえた。実験動物は犬、家兎、猫の下顎第三切歯ないし切歯を用い、麻酔薬はクロロパンナトリウムを使用した。

1) 歯根膜 歯牙に機械的刺激を与え、その動作電位を神経幹より誘導して、large, medium, small spikeを観察しかつ分離した神経においても同様の spike を誘導観察した。刺激強度を増大さすと spike の数の増加をしめしたが large spike は刺激後短時間にて消滅し medium および small spike の発現時間が長いことは閾値が大であることと共に前者と相違した所であった。また家兎18例中3例、犬15例中2例において spontaneous discharge の発現が観察された。これは Ness (1954) の所見と異り手術操作の影響によって発現されるものと考え。加えて歯根膜の sensory terminals における facilitation の存在を検索した。

2) 歯髓 犬の第三切歯根端より歯髓にゆく Rami dentales mandibulares を分離剔出し、歯髓

は機械的刺激にたいし反応しないことをたしかめ、かつ伝導速度は40~50m/secにてB, C線維は存在しないことを観察した。さらに歯頸部根面5mm程の巾を露出し、sacchrose, glucose, NaOH, NaCl, HCl の各種濃度溶液を作用させ impulse の発現する濃度及び発現経過を観察した。

3) 歯齦 touch, pain receptor より impulse を誘導して、その感覚点の分布状態を観察し、乳頭部は密、歯頸部より齦唇移行部にわたり次第に疎になってゆく状態をしめた。又一側の神経は正中線をこえて他側歯齦および歯根膜にまで innervation しないことを家兎においてたしかめた。

### 4. 内菌耕二・本間邦則 (新潟大生理)

#### 歯の神経の電子顕微鏡的研究

歯の神経支配を追究する第1段階として、先ず形態学的に、その微細構造について知るために、電子顕微鏡を用いて歯髓の神経線維について観察し、若干の知見を得たのでその概要を報告する。

実験に供した材料は、上下の健全歯の歯髓である。即ち抜去後、直ちに歯髓を摘出し、2%オスマミウム・燐酸緩衝液(p.H7.4)で固定(2.5~3時間)し、漸強エタノール脱水後にメタクリル樹脂で包埋し、超薄切片として観察した。主として、前歯の歯冠部の歯髓での所見は凡そ次の如くである。

1) 有髓神経線維は豊富で、太さ1~6 $\mu$ のものが分布して居り、2~3 $\mu$ のものが最も多い。構造の特長として、Axonの一横断面には4~5個の Mitochondria が認められる。Myelin Sheathの厚さは1~0.5 $\mu$ で細い神経線維でも厚いことがある。Myelin Sheathの厚さとAxonの太さの間には、蛙の坐骨神経でみられるような簡単な関係は認め難い。Myelin lamellaの厚さは150Å前後である。Schwann cell membraneは明瞭である。

2) 無髓神経線維は凡そ1~2 $\mu$ のものが多く、主として血管壁に接して存在する。Mitochondriaは少ない。Schwann cell nucleusは有髓神経線維に比して大きいようである。

3) 以上の結果により、有髓神経線維は知覚神経に属するものと思われ、殊に痛覚を受容するものが多く含まれると思われる。無髓神経線維は血管の附近に多く存在して居り、血管を支配しているように考えられる。恐らく、歯髓内の自律系

の神経線維と想定してもよいと思われるものである。之らの点については今後も追究したいと思う。

##### 5. 富田恒男 (慶大生理)

###### 至適濃度のブラウン管記録を得るための一方法

Braun 管の掃引速度を変えた時常に略々等しい濃度の記録を得ることはなかなか困難で、露光が不適当なために貴重な data を無駄にすることがよくある。この点を改善するための一方法としての次のような試みを行って極めて満足すべき結果が得られた。即ち必要に応じて60W程度の電球をカメラの直前にセットできるようにしておき、これで螢光面を照らしBraun管を毎秒1回位でdriveしながら光跡が僅かに弁別し得るに至る迄その輝度を調節する。最初に任意の掃引速度でこの時のカメラの適正絞りを決定しておけば、その後は絞りを固定したままで1掃引1秒から数ミリ秒迄の広範囲に亘ってこの方法で殆んど等しい露光を得ることができる。

##### 6. 船木三郎 (東京医歯大生理)

###### 血管平滑筋の膜電位に就いて

平滑筋の膜電位に関する電気生理学的研究は、近時多くの研究者に依り、種々の動物の生体組織を用いて、旺んに行われている。併し血管平滑筋線維の膜電位に就いては、未だ全く報告されていない。筆者は其の electrical activity を検討する為に、血管壁を構成する平滑筋線維に細胞内微小電極法を適用して、静止電位並に活動電位を誘導した。先ず蛙の舌に分布する20-100 $\mu$ 大の血管を選び、その血管壁の平滑筋線維内に比較的高抵抗(30-50M $\Omega$ )の微小硝子電極を刺入し、静止電位を測定した。夫等の平均値は40.5mVで、此の値は他の平滑筋線維の静止電位に類似する。次に細胞外より、微小電極に依り単一感応刺戟を与えると約60mVのorderの活動電位が記録された。此のspike potentialのdurationは略々200msec程度であり、著明なovershootが見られた。尚此の種々のspikeは、一般に悉無律に従わないもの様である。又spikeの形は多くの場合比較的simpleな単相であるが、時にそのrising phaseかfalling phaseか又はその両方のphaseに、1個乃至数個のhumpを伴うことがある。この様なhumpの

configurationは、例えばuterine・taenia coli等の平滑筋線維に見られる。slow wave類似のものと思われる。次に血管の特殊な部位、例えば血管分岐部或いは電氣的乃至は化学的刺戟にsensitiveな部位の筋線維から比較的速かな経過を持つspike potentialが記録された。此のspike potentialは約60mVの大きさと約50msecのdurationを持つ。この場合稀薄なacetylcholineの作用は、spikeに一過性のafter-hyperpolarisationを起さしめる。此の実験に於てspontaneous discharge及びresting potentiallevelのfluctuationは、少数例を除き見られなかった。尚毛細血管壁のendothelial cellの静止電位の平均値は47mVであった。電氣的刺戟に依りこの部の細胞からは、spikeが見られなかった。

##### 7. 本郷利憲・久保田 競 (東大脳研)・島津 浩 (順天堂大生理・東大脳研)

###### 運動の調節機序(その1)麻酔条件とr系の活動

バルビツレイト(ネブタール)麻酔下での、r系に対する中枢刺激の効果が、麻酔条件によって大きく左右されることを知った。動物は猫、r系のIndicatorとしては下腿伸筋の筋紡錘よりの求心性インパルスを用いた。ネブタール麻酔の浅い時(10~15mg/kg)、尾状核、淡蒼球、視床中心核(いずれも対側)を矩形波刺激すると(5秒間、刺激頻度は7.5, 300の2種)、刺激頻度の如何を問わず、r系に対して促通効果を見る。一方麻酔を深くすると(15~25mg/kg)同一部位の同一刺激によって逆に抑制効果が見られる。

1) 同一部位でも麻酔条件によって反応が全く逆転すること、2) 深麻酔条件で淡蒼球等の刺激が抑制効果を示す時、中脳網様体の刺激は浅麻酔時より弱い、いぜんとして促通効果を示すこと、3) ネブタールは特に脳幹網様体に効くと思われること(脳波所見より)、4) 剔除実験より皮質感覚運動領は刺激効果の逆転に不可欠でないこと、等の事実から、1) 上記刺激部位より下位の中枢に促通系と抑制系とが、機能的に独立して存在すること、2) 浅麻酔下では促通系の方が刺激によって強い効果を示すこと、3) ネブタールは特に促通系の機能を低下させるため、深麻酔下では抑制効果が前面にでてくること、4) この実験で見られる促通系の主要な部分は脳幹網様体

であることが最も考え易い。

刺激の頻度効果に関して興味あることは、適当な麻酔条件（浅麻酔から深麻酔の移行期）の時、300c/s で促通、7.5c/s で抑制が見られることである。今後刺激強度との関連で詳細な検討を要するが、低頻度刺激と抑制のメカニズムとの関連に注目して実験を進めて行きたい。

#### 8. 今村護郎・川村 浩（東大脳研）

##### 大脳辺縁系と動物の行動について

辺縁系、特に海馬、扁桃核は記憶や情動と密接な関係をもっとされているが、われわれは慢性に電極を植えたネコについて、辺縁系の電気活動と行動との関係をいろいろの条件下で比較することによってこの問題を研究している。今日迄にえられた基本的データは従来の急性の事態の結果とほぼ一致するが、ただ急性事態で比較的現れにくい relaxed pattern がよく出現すること、及び海馬の arousal pattern で容易に 5-7 cps の比較的速い波がでること等、細かい点で相違がみられた。

動物が drowsy のときに視・聴・痛その他の刺激を与えた場合、もっとも活性化を生じ易いのは痛であり、ついで聴、視の順となる。又同一 modality の刺激については一般に強い程有効だが必しもそうでなく、例えば大きい click 音よりも小声で名を呼ぶ方が有効のように、動物にとってより emotional, meaningful な刺激程活性化し易いように思われる。

また海馬、扁桃核をそれぞれ数十サイクル、数ボルトで刺激すると、前者で探索反応、後者で停止反応、そして運動、唾液分泌等が生ずるがこれが seizure の閾下刺激ですでおこることが示された。

またオーロパン 5mg/kg 投与時では、sleep pattern を示すが、いろいろの刺激をつづけて行ったり、或は醒めぎわなど neocortex で sleep pattern が優勢であるにも拘らず、辺縁系では arousal pattern がみられる場合がある。この dissociation は急性事態でもみられるから、この薬物が主として網様体から neocortex へ選択的に作用することを示唆している。

アトロピン 1.5mg/kg 投与時では、EEG は sleep pattern であるが、行動的には一見平常と殆んど

変りがない。しかし、いろいろな刺激、特に痛刺激によっても殆んど EEG に活性化がみられず、又行動的にも、刺激に対して無関心になっていることが示された。

#### 9. 福田篤郎・松本 修（千葉大第2生理）

##### 発熱物質と白血球反応

チフス・ワクチン静注 (0.1cc/kg) によるウサギの白血球変動、即ち初期の減少、後期の増加に関し、副腎皮質との関係を追求し、併せて耐性獲得時の状況を検討した。

副腎摘除ウサギでは初期の減少はみられるも後期の増加は起らない。この際前報<sup>1)</sup>の如く発熱はみられ、発熱と白血球増多は直接の関係がないことが分る。少量の cortisone (1mg/kg) を2時間前に投与しておけば、チフス・ワクチンによる白血球増多反応は顕著に現れる。

連日チフス・ワクチンを静注し発熱反応もみられなくなった耐性ウサギでは、白血球の初期の減少、後期の増加も共に著しく軽減する。この際少量の cortisone (1mg/kg) を2時間前に投与すればワクチンによる白血球増多反応のみ顕著に出現する。副腎別出ウサギでは前報<sup>1)</sup>の如く発熱耐性は得られないが、ワクチンによる白血球の初期減少反応は連日のワクチン投与で著しく軽減する。

以上の成績より次の如く結論した。1) チフス・ワクチンによる初期の白血球減少反応は Selye の所謂 shock 期現象と解すべく、その耐性獲得には副腎は関与しない。2) チフス・ワクチンによる後期白血球増多反応は副腎皮質活動に由来する現象であり、チフス・ワクチンは皮質活動を起すと同時に糖質ステロイドの白血球増多反応を敏感ならしめる。3) 耐性獲得時には皮質活動が起らないので白血球増多反応も消失する。なほ前報<sup>1)</sup>で耐性は液性に多少とも正常ウサギに移行せしめ得ると述べたのは、その後血清量を増しての試みにより証明出来ず、これを取消す。

1) 福田篤郎・中沢隆一(1959)発熱物質と副腎皮質 日本生理誌21, 603

#### 10. 田坂定孝・冨家崇雄・戸川 潔・本田西男・入来正躬（東大田坂内科）

四肢末梢皮膚温変動曲線の解析について（第1報）

1. 皮膚温変動の本質追求のため、熱電対自記連続記録装置を用い、直腸温、指、趾温、環境温を長時間連続記録した。この四者の関係から、皮膚温の調節状態をⅠ期よりⅤ期に分類し、各期の四肢末梢皮膚温変動曲線の特性を、温度の水準変動性、左右差、血流、調節される焦点によって説明した。

2. 指温の持続性ならびに周期性について、友田氏自己相関係数表及びスペクトル密度表によって検索した。

i) 健常人に於ては

a) Ⅰ期では持続性長く、周期は認められない。

b) Ⅱ～Ⅳ期では持続性中等度で、周期は著明である。

c) Ⅴ期では持続性短く、周期は顕著でない。

d) Ⅱ～Ⅳ期の変動とⅤ期の変動はその本質を異にするものと考えられる。

ii) 痛の状態に於ける指温についても分析を試みたが、健常人の場合と異なるものも認められる。

3. 以上の変動は血流によるものではないかと推定し、兎の耳の構造及び働きの特長が、四肢末梢と類似していることから、兎耳をとりあげ、兎耳温変動が人の四肢末梢皮膚温変動と酷似していることを確かめた。次に兎耳温変動曲線下行枝を解析すると、曲線は $y = A + Be^{-at}$ で表わされる。これは自然冷却曲線の近似式の1つとして与えられるものであるから、皮膚血流は断続的に流れるものであることを推定し、これを切離した兎耳における灌流実験により確かめた。人の四肢変動曲線では複雑ではあるが、同様な変化を示す場合が意外に多く認められる。このことから、皮膚血流はⅠ期の指で極少、Ⅴ期の指で極大、残りの期に於ては極少と極大とが交替するものと推定される。

4. 四肢末梢皮膚温変動の本質解明のために、役立つのではないかと考え、弛緩放電との比較検討を試みた。

因に皮膚温の期の分類に関する詳細は富家皮膚温変動因の解析(日本温泉気候学会雑誌, 22, 120~136(昭33.9))を参照されたい。

11. 島本多喜雄・前沢秀憲・井上道郎・山崎博男

佐川農夫・内田秀真(東京医歯大臨床生理)

数種高分子物質作用とReserpine前処置の影響  
赤痢菌、大腸菌等一部グラム陰性菌内毒素乃至多糖体分劃・組織多糖体・Glycogen・Dextran・Kaolinなどの高分子、高粒子物質投与により、動物は“host response”の名に統合される一連の反応を起す。即ち血小板の減少・血中血小板凝集物質の出現・白血球減少にひきつづく増加・アドレナリン皮内注射による局部出血性壊死の発現・発熱・循環ショックにひきつづく死などである。この反応は物質により効果の強弱はあるが多くの上記物質に共通する反応である。この際電子顕微鏡像でみると局所循環障害が特に心筋内毛細血管でみられこの変化はアドレナリン併用により増大する。これらの物質の連続投与により、動物に人にみられると同様の粥状動脈硬化像が特に心、脳にてみられ心筋に梗塞様所見を得た。この変化はアドレナリン併用により増悪し、 $Mg^{++}$ 、レセルピンなどにより減少する。

レセルピン前処置により動物は上記物質投与時、血小板の減少などは示すが未処置時みられる如き血中のセロトニン出現はみられずかつ内毒素の致死効果を防ぐ。ウサギに豚赤血球をあたえる不適合輸血に際しても血小板減少を始めとする“host response”が起るが、この際も生体内のセロトニン、ノルアドレナリンレベルは減少しておく量のレセルピン前処置により、劇的に予防効果を示した。

臨床上或種の病態にてアドレナリンによる皮内出血性壊死が高率にみられ、これらの血小板数は減少しかつ血中に血小板凝集物質が出現することがみられた。これらの疾患即ち赤痢菌感染症、ジフテリー、イレウス、関節ロイマなどで細菌内毒素乃至組織多糖体などの吸収されている1つの可能性を示し、特に急性には疫痢をもって代表される如き循環ショック成立の機序にとり示唆にとむ成績を得た。

12. 幸塚嘉一・内藤博江(関西医大生理)

“脊髄後根交感神経”(efferent)の脊髄に於けるoriginについて

さきに私達は“脊髄後根交感神経”(efferent)がその機能として血管拡張作用、心臓抑制作用並びに瞳孔縮小作用を有することを実証し得たのであ

るが、本研究においては前回に引き続き“脊髄後根交感神経”の脊髄中における origin について検討した。

実験方法：その概略は前報（第18回近畿生理学談話会）と同様である。脊髄の刺激に当っては今回は“carmine nicotine microinj. method”（仮称）によった。血管直径の変化は顕微鏡下オクラールマイクロメーターにより測定した。尚 carmine は実験後脊髄の組織標本を作製し、microinj. した locality の決定に資するためである。

実験成績：1) 脊髄ガエルの一側の post. root (I) のみを残して他の前根後根をすべて切断する。残された post. root (I) の起始部を含むところの脊髄 (1/4) の部位を carmine nicotine microinj. して刺激すると、同側の腫孔は刺激前に比して明らかに縮小し、後一定の時間を経て元の腫孔直径に回復した。この成績は“脊髄後根交感神経”性の縮

腫中樞が脊髄（後半部）中に存在することを示す。2) 脊髄ガエルにて、一側の post. root II ~ VI を残し他の前根、後根をすべて切断した後、残された post. root II ~ VI の起始部を含むところの脊髄 (1/4) の部位を、同じく carmine nicotine microinj. して刺激すると、同側の M. gracilis の血管は刺激前に比して明らかに拡張を示した。この成績は“脊髄後根交感神経”性の血管拡張中樞が、脊髄（後半部）中に存在することを示す。

結論：(1) 食用ガエルの脊髄中には“脊髄後根交感神経”性の縮腫中樞が存在することを、前回に引き続き確証し得た。(2) 食用ガエルの脊髄中には“脊髄後根交感神経”性の血管拡張中樞が存在することを、M. gracilis の血管について実証し得た。(3) 上記(1)(2)の成績は、所謂 Langley 氏遠心性二重支配の不当性を示す根拠たり得ると考えられる。

#### 第10回生理学中国四国地方談話会

時 昭和33年11月22日（土）9時～16時

所と当番 岡山大学医学部生理学教室 林 香苗・福原 武

#### 1. 岡 芳包・奥野重樹（徳島大第1生理）

有糸核分裂経過に対する界面活性剤の作用—ムラサキツユクサ雄蕊毛細胞についての実験

2%蔗糖寒天薄板湿室法によるムラサキツユクサ雄蕊毛細胞の超生標本に、3種の界面活性剤を種々の濃度で作用させ、その有糸核分裂経過に及ぼす影響を見た。陽イオン活性剤（塩化ベンザルコニウム）では0.05%、0.025%の何れも分裂経過前半期にのみ阻害が見られ、後半期には対照との差が認められなかった。陰イオン活性剤（ラウリル硫酸ナトリウム）では0.05%、0.1%の濃度で前半期にのみ阻害が見られ、後半期には対照との差が無く、0.1%の方が阻害度が強く、0.3%では各期を通じて対照との差が認められなかった。非イオン活性剤（Tween 80）では0.1%により前期にのみ阻害が見られ、0.025%、0.3%では全く阻害が認められなかった。

以上の実験結果から、界面活性剤は或る濃度でその乳化分散作用により、細胞原形質の膠質状態に粘性低下の変化を与え、これが核分裂前半期の原形質の粘性上昇を抑え、その結果核分裂前半期の経過に阻害作用を起すものであらうと考えられる。

#### 2. 岡 芳包・嘉手川達也（徳島大第1生理）

ムラサキツユクサ雄蕊毛細胞の有糸核分裂経過に対するSH基阻害の影響（続報）

2%蔗糖寒天薄板湿室法によるムラサキツユクサ雄蕊毛細胞の超生標本に、種々の濃度のPCMBを作用させ、その有糸核分裂経過に及ぼす影響を見た。10<sup>-7</sup>M PCMBでは分裂経過各期共に阻害は認められなかった。10<sup>-6</sup>M PCMB、10<sup>-5</sup>M PCMBでは何れも分裂経過前半期にのみ阻害が見られ、後半期に於ては対照との差異は認められなかつた。又5×10<sup>-6</sup>M PCMBでは前期の経過時間が著明に延長し、中期に於て遂に核分裂は停止した。

次に10<sup>-5</sup>M PCMB作用後Cysteineを添加することにより、PCMBによる核分裂経過前半期の阻害が消去されるのを認めた。

以上の実験結果からムラサキツユクサ雄蕊毛細胞の有糸核分裂経過、特に前半期の経過維持にSH基の関与が大なることが考えられる。

#### 3. 野田理人・嘉手川達也・大村哲昭（徳島大第1生理）

受精サンショウウニ卵の有糸核分裂経過に対するSH基結合剤の作用

サンシヨウウニ卵に媒精後SH結合剤 (HgCl<sub>2</sub>, PCMB) を作用せしめ、位相差顕微鏡による生体連続観察を行い、その有糸核分裂経過に及ぼす影響を見た。

1) 10<sup>-6</sup>M HgCl<sub>2</sub> の作用では、中期に或る程度の経過時間の延長を認める外、その他の各期には阻害が認められなかった。10<sup>-5</sup>M HgCl<sub>2</sub> の作用では分裂経過前半期に著明な阻害が見られ、後半期に於ては阻害が認められなかった。又 10<sup>-5</sup>M HgCl<sub>2</sub> 作用後、Cysteine を添加することにより、HgCl<sub>2</sub> 単独作用群に見られる分裂経過前半期の阻害は消去された。

2) 10<sup>-6</sup>M PCMB の作用では、分裂経過各期に亘り阻害は認められなかった。10<sup>-5</sup>M PCMB の作用では分裂経過前半期のみ著明な阻害が見られ、後半期に於ては阻害が見られなかった。又 5×10<sup>-5</sup>M PCMB 作用後、Cysteine を添加することにより、PCMB 単独作用群に見られた分裂経過前半期の阻害が消去されるのを認めた。

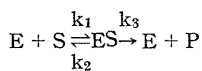
以上の実験結果から、サンシヨウウニ卵の有糸核分裂経過特に前半期の経過維持に、SH 基が重要な役割を果していることがうかがえる。

#### 4. 山野俊雄・三宅可浩 (徳島大第2生理)・望月澄三 (阪大第1生理)

##### D-アミノ酸々化酵素の反応速度論的研究 (1) 基質、受容体と酵素蛋白との相互作用について

ミハエリス恒数 Km は基質酵素間の親和性を表わすものとして、多くの酵素について測定が行われて来た。D-アミノ酸々化酵素についても空気メヂャムの条件で多くの人々によって測定が行われている。しかし酸素圧の種々異った分圧の下で Km を測定すると、空気メヂャムの時の値と随分異った値が得られる。従って Km の値は見掛け上の値で本酵素については基質の親和性を表わす恒数としては不十分である。

著者等は各酸素分圧の下に Km を求め、これによって、より本質的な恒数として、酵素基質間の反応速度恒数を求めた。即ち



の反応に於ては、見掛けの Km は

$$Km = \frac{k_2 + k_3}{k_1} = \frac{k_2e + k_3e}{k_1e} = \frac{k_2e + Vmax}{k_1e} \dots (1)$$

で与えられる。e は酵素濃度で高度に純化された本酵素では既知の量となる。(1)より、Vmax の測定から k が求まり、更に Km ~ Vmax の関係から、k<sub>1</sub>, k<sub>2</sub> が求められる。実験は pH8.3 及び pH6.8 で行われたが、何れの場合も、Km ~ Vmax の関係は坐標のほぼ原点を通る直線関係として表わされ、これより、k<sub>2</sub> = 0 となる。k<sub>1</sub> としては pH8.3 で 2.5×10<sup>9</sup> mole<sup>-1</sup> l. sec<sup>-1</sup> の値が、又 pH6.8 では 0.6×10<sup>9</sup> mole<sup>-1</sup> l. sec<sup>-1</sup> の値が得られた。このような値は他のフラビン酵素の k<sub>1</sub> の値に比して小さい値であることが注目される。又本酵素の pH optimal 曲線の説明には有用な値である。

次に酸素分圧と Vmax の値をグラフに目盛ると低酸素分圧でも比較的に反応速度は減弱せず高酸素分圧では酸素飽和現象が見られた。この事実は受容体の酸素が酵素に親和性をもっていることを推察せしめる。酵素受容体の親和性の解析の一助として Negelein-Brömel 蛋白を用いた実験も併せて行った。

#### 5. 井上好夫・伊藤 広・坂田三弥・岡田勝喜・山田 守 (鳥取大第1生理)

##### 三次元光弾性実験法

光弾性実験法が医学方面に取り入れられるようになったのは Alexander (1936) 以来のことで現状においても二次元の解析にとどまっている。吾々は歯牙について三次元の実験を行ったのでその方法を報告する。

実験方法は G. Oppel の応力凍結法を採用した。実験材料は天然歯約4倍大のエポキン樹脂で、試験体は上顎左側第二小臼歯を選んだ。まず天然歯牙に相似形のものを鑪で「けがき」した。この際歯髓腔を作る必要があるのでモデルを頬舌的に鋸で切断して形成した。これを再び即時重合レジンで接着し、荷重装置を適合し石膏に埋没した。荷重装置は三形態のものを考案し真鍮を鋳造して作った。第一形態のものは歯牙の遠心隣接面より歯軸に直角な面で接するもの、第二形態は45度、第三形態はスプーン状に接するようにした。また歯根膜を形成する必要があるので、モデルと石膏の境に約2mmの耐火性埋没剤を流入して緩圧した。このようにして調製した試験体を恒温装置の中に挿入して温度を上げた。

凍結サイクルは先ず室温より80度まで30分、80

度より90度まで1時間、90度で2時間繋留し、その後10度上げごとに1時間費して130度まで上げ停電して自然冷却した。このようにして2つの形態のものを実験し、他の一形態のものは2倍の時間をかけて実験した。冷却後二次元近似法で約6mmの厚さに近遠心的に縦断し、この薄片をγ-Monobrom Naphtarin 液中に浸漬して写真を撮った。

総括 (1)応力縞を明瞭に現出できた。従って立体的に考察できる本法は優秀な実験法であることがわかった。(2)歯髄腔を形成する際一度切断したものを再び接着したので応力線が離断するのを恐れたがその心配はなかった。(3)凍結時間の長短には関係ないように見受けられた。(4)作図は今後の課題である。

#### 6. 岡田勝喜・山田 守 (鳥取大第1生理)

##### 筋変性法による端板電位の研究

Tubocurarine その他所謂 Block 剤を用いなくても端板電位は観察出来る。即ち神経筋標本を長時間 Ringcr 氏液中に保存する時は筋の機能が神経或は端板のそれに比し急速に悪くなり間接刺戟により端板電位が現われるようになる。此の状態を隔絶箱を用いて観察するに2~6日間保存した神経筋標本では始め筋が間接刺戟で未だ動いて居り、働作流の上にもそれが認められるが、暫くすると筋の動きは次第に弱まり、遂に動かなくなる状態になる。この時筋は長さが約半分、幅は約2倍位になって居り、所謂生きて居る状態は全く認められない。此の時即ち筋は全く死んで居ると思われる時、間接刺戟で端板電位は発現し種々の薬物に対して反応を示す。更に此の標本を保存すると、端板も機能を失い神経の機能のみ残る。即ちかかる方法で観察すると、神経、端板、筋の順にその機能が長く保たれる事になる。その原因を考えて見るに、端板電位が低下した時  $CaCl_2$  により電位が上昇する事実から見て、各々の形質膜にある  $Ca^{++}$  の役割が重要な要素になると想像される。換言すれば、形質膜に結合して居る  $Ca^{++}$  が長時間経過すると次第に脱落するが、その早さは筋が最大で、端板、神経の順であると考えられる。斯る事実から次の方法による端板電位を筋変性法による端板電位と名づけた。

尚此の筋変性法による端板電位は季節差があり

夏期の墓では、筋、端板が殆んど同時にその機能を失い、端板電位の研究に適さない。これは夏冬の墓の組織内の  $Ca^{++}$  量の差によるものと考えられる。

尚 Castillo 等によると、 $K^+$  は端板の膜を透入すると云うが、筋変性法による端板電位で見ると、この事実は正しいように観察される。

#### 7. 坂田三弥・田本博猛・熊野千太郎・岡田勝喜 山田 守 (鳥取大第1生理)

##### 歯根膜よりの afferent impulse に就いて

歯髄、歯根膜および歯齦における知覚末端器および同神経については形態学的な面に重点がおかれた研究が多くなされてきたが、一方 Pfaffmann (1937), 菅谷 (1952), 原 (1953), Brookhalt et al. (1953), Ness (1954), 斎藤 (1956), 渡辺 (1956) らは電気生理学的な面より、歯髄、歯根膜を検討し興味ある結果を発表している。

しかしながら、なお不明かつ解明なるべき点が見出されるので犬、家兎をもちい歯根膜、歯髄および歯齦よりの afferent impulse を誘導して再検討を試みた。今回は歯根膜について述べた。

1) 犬の第三切歯の歯髄枝を分離し、歯髄は外部よりの叩打に回答しないことを、一層明らかにした。

2) 犬の頤神経、歯髄枝の伝導速度は 40m/sec, 50m/sec にて、家兎においては頤神経 35m/sec, 歯髄枝および歯根膜は 40m/sec にてともに B, C 線維の存在はみとめられなかった。

3) 機械的刺戟を次第に増大せしめると response time は次第に減少した。これは pacinian corpuscle のそれと近似的な値をしめすものと考えられる。

4) 歯牙に与える刺戟方向によって response time の差、ならびに pattern の様相に相異をしめすように考える。

5) 機械的刺戟により large spike, medium spike, small spike をえ、これにたいし機能的な面より考察を与えた。

6) 犬15例中2例、家兎18例中3例において自発性反復興奮を観察したが、これは手術操作によって誘発させられたものと考えられる。

7) 歯根膜 receptor に facilitation の存在することを観察した。

### 8. 岡 芳包・宇都山 登・野田幸作 (徳島大第1生理)

#### 心電図短波無線搬送による運動中の心搏週期変動経過の実測

スポーツマン (高校野球部選手5例) と非スポーツマン (同学年で運動部活動をしていない者5例) に就き、運動中及びその前後に亘って、前回 (昭和32年11月30日) の本学会で発表した方法で、短波無線搬送による心電図から、心搏週期の変動経過を実測した。運動負荷は長さ40m, 勾配30°, 112段一直線の石段全力駆け登りとした。疾走時間は20~28秒。主な結論は 1) 疾走開始直後の心搏週期は、開始前の値の如何に拘わらず、急激に約0.5秒 (心搏数約120) に下る。而して疾走開始後0.5秒を中心としてかなり大きい変動が出現する事が多い。但し疾走前の平均心搏週期が約0.5秒の者では前記の現象は現われない。2) 最小心搏週期の平均値は約0.3秒以下 (心搏数約200以上) にはならない。3) 回復は階段状で心搏週期は変動と安定を繰り返す。疾走停止後1分30秒~2分迄はかなり急速に回復し、その後は約0.5~0.6秒の水準に若干時間停滞する。4) 非スポーツマンでは疾走終了後も最小心搏週期をスポーツマンより長く持続する。更に運動中の心搏週期の変動経過と呼吸運動との関連を把握するため、心電図と呼吸運動の可搬型同時搬送装置を考案製作した。即ち前回に報告した心電図の約800c/sの周波数変調副搬送波の他に、呼吸運動の呼吸吸気をマスクに捕え、インダクタンス変化に応じて約250c/sの副搬送波を周波数変調した。主搬送波は7Mc/sの振巾変調。受信記録は短波受信機よりテープレコーダーに両副搬送波を録音し、再生の際副搬送波の周波数弁別にはフォスターンレー回路を通し、更に増巾してオシログラフに描記した。

### 9. 柴田二郎 (山口医大生理)

#### 心筋線維膜抵抗に対する2,3の薬物の影響

最近心筋の活動電位と膜抵抗との関係を期間約100msec程度の矩形波を使用することによって追究する実験が報告されている (Trautwein)。

本実験に於ては、蛙の剔出心筋を使用し、アドレナリン、クロールプロマジン及び抗コリンエステラーゼによる心筋の活動電位の変化とそれに伴う膜抵抗の変化を追求した。膜抵抗の測定には大

谷・荒木の方法を使用した。

自発的搏動を行っている心筋に対しては、アドレナリン、クロールプロマジン及び抗コリンエステラーゼはすべて静止電位を増加せしめ、その時の膜抵抗は約70~80%減少する。併しアドレナリンによる以上の変化は $5 \times 10^{-5}$ g/mlの濃度では、最初の数分に現われるのみでその後は静止電位、活動電位は何れも減少を来す。この場合に於ては膜抵抗は却って増大して来る。Chlorpromazine, Anticholinesteraseを与えた場合の活動電位の変化は前者は所謂 Cardiac stabilizer の、後者は Acetylcholine のそれによく似て居り膜抵抗の変化も略平行している。

又 Chlorpromazine によって最も顕著に見られる心筋の変化は搏動数の減少である。

### 10. 川端五郎・竹尾義長 (山口医大第2生理)

#### 猫露出心よりの心電曲線についての知見補遺

### 11. 野田 肇 (広島大第1生理)

#### 血管運動神経に関する研究

延髄血管運動中枢の存在に就いて追究してみた。

ネブタール (50×稀釈液) 麻酔の蛙30匹について実験し延髄背面を露出、約20 $\mu$ のエナメル鋼線単極電導子を挿入、電子管刺激装置を用い、蛙蹠膜毛細動脈の口径をオクラールマイクロメーターで測りながら刺激し、その口径の変化を見た。

反応の認められた刺激部位の組織標本を作製しワイゲルト又はニッスル染色を行い確認した。

延髄背面に反応点を投射すると、門より直上迄の第四脳室境界線外側に於て拡張反応を示す点が多く、又門と小脳下端間の略中央部よりやや上方迄の第四脳室境界線外側に収縮反応を示す点が多く認められた。

### 12. 加藤正明 (広島大生理)

#### 尿管壁の比較生理

第1門原生動物、第2門海綿動物には体液循環に関与する尿管の発現はないが、水クラゲ (第3門 腔腸動物) 肝蛭 (第4門 蠕形動物) に至ると、所謂消化循環系が発現する。尿管内容物は体構成の特異な構造により受動的な動きを示す。併し中胚葉の発生を見た肝蛭では間充織間隙に血管

発生 の 原型 と 思 える 所 見 を 呈 ず。ミミズ (第 5 門 環 形 動 物) で は 循 環 系 は 消 化 管 より 分 離 し、閉 鎖 性 脈 管 を 形 成 す る が 心 臓 の 形 成 は な い。脈 管 壁 は 発 生 時 の 状 態 を 思 わ ず 幼 若 な 構 造 で あ る。形 態 的、機 能 的 に は 腸 管 と 密 接 な 関 係 に あ り、そ の 運 動、及 び 体 運 動 に よ る 体 腔 内 圧 の 変 化 に よ る 受 動 的 影 響 を 受 け る。ナマコ (第 9 門 棘 皮 動 物) は 系 統 的 に は 進 化 し、脈 管 壁 中 に 弾 性 組 織 が 発 現 す る が 形 態 的 に は ミミズ の も の よ り 余 り 進 化 し な い。斯 る 動 物 に 於 て は 脈 管 壁 の 透 過 に よ り 体 腔 を 介 し て の 体 液 移 動 が 脈 管 系 の 進 化 発 展 に 意 義 を 有 す る。第 7 門 節 足 動 物、第 8 門 軟 体 動 物 で は 心 臓 が 形 成 さ れ、脈 管 系 も 個 体 の 進 化 に よ る 間 充 織、体 腔 の 状 態 に よ り 種 々 な る 血 管 系 を 呈 す る。カキ (軟 体 動 物) は 幼 若 な 血 管 系 で 大 部 分 は 開 放 性 血 管 系 を 呈 す る。器 官 形 成 が 進 化 し、間 充 織 の 縮 少 し た クルマエビ (節 足 動 物) で は 開 放 性 血 管 系 は 縮 少 し、動 脈 壁 も 筋 線 維 が 主 体 と な り 特 異 な 層 構 造 を 呈 し 始 め る が、機 能 的 に は 脊 推 動 物 に 比 し 相 異 す る。タコ (軟 体 動 物) で は 脊 推 動 物 に 見 ら れ る 層 構 造 を 呈 し、中 膜 輪 走 筋 量 分 布 も 略 々 一 定 す る。弾 性 組 織 の 発 現 は な い。静 脈 は 囲 心 腔 の 縮 少 と 共 に 固 有 の 管 壁 を 有 し、タコ に 至 り 筋 線 維 の 出 現 が あ る。斯 く し て 脊 推 動 物 に 於 て は 動 脈 は 鯉 (魚 類) 静 脈 は 家 鶏 (鳥 類) に 於 て 形 態 的 に は 哺 乳 動 物 と 略 々 一 致 す る。

### 13. 山光次郎 (広島大生理)

#### 各種動脈系の各部位の筋量に就いて

猫 を 用 い て、脳 に 至 る 動 脈 (内 頸 動 脈、椎 骨 動 脈 の 末 梢)、脾 動 脈、肝 動 脈、小 腸 内 動 脈 (上 腸 間 膜 動 脈 の 末 梢)、腎 動 脈、筋 肉 内 動 脈 (腰 腸 動 脈) の 毛 細 血 管 の 直 前 に 至 る 迄、そ の 組 織 構 造 の 検 索 と 中 膜 輪 走 筋 量 を 測 定 し 検 討 を 加 え 次 の 結 論 を 得 た。

1) 動 脈 の 弾 性 組 織 は 略 々 内 半 径  $30\mu$  以下 に な る と 殆 んど 認 め な い。

2) 中 膜 輪 走 筋 核 数 は 末 梢 に 近 づ く 程 減 少 す る。之 に 反 し 比 内 腔 筋 量 (中 膜 輪 走 筋 核 数 の 内 腔 容 積  $1\text{mm}^3$  に 対 す る 比)、比 内 腔 壁 量 (動 脈 壁 幅 の 内 腔 面 積  $1\text{平方}\mu$  に 対 す る 比) は 末 梢 に 近 づ く 程 増 加 す る。而 し て 内 半 径  $30\mu$  以下 の 末 梢 で は 比 内 腔 筋 量 の 急 激 な 増 加 を 認 め た。こ の 部 は 殊 に 能 動 性 収 縮 の 強 い 箇 所 と 思 わ れ る。

3) 上 記 各 種 動 脈 系 の 筋 量 に は 夫 々 認 む べ き 差 違 が あ り、内 半 径  $20\mu$  迄 は 脾 動 脈 が 最 も 筋 量 多 く、脳 に 至 る 動 脈 は 最 も 少 い。肝、腎 動 脈 は こ の 中 間 に 位 す る。然 る に 内 半 径 が  $20\mu$  以下 に な る と 肝 動 脈 が 最 も 多 く な る。こ れ 等 の 事 実 は 各 種 臓 器 並 に 組 織 の 流 血 量 ひ い て は 機 能 と 密 接 な 関 係 あ り と 思 わ れ る。

### 14. 奥広作三 (広島大第 1 生理)

#### 脈管壁の伸展性

オ ヱ ロ パ ン ソ ー ダ で 麻 酔、開 胸 さ れ た 成 犬 (10 ~ 15kg) の 外 頸 静 脈・胸 管・総 頸 動 脈 を 周 囲 組 織 か ら 丁 寧 に 剝 離 し、略 同 じ 高 さ で 切 断 摘 出 し、一 端 を 硝 子 カ ニ ュ ー レ に 挿 入 結 紮 し、他 端 も 結 紮 し た 袋 状 標 本 を 実 験 に 供 し た。こ の カ ニ ュ ー レ を 硝 子 管 及 び 硬 質 ゴ ム 管 に 依 っ て、マ リ オ ッ ト 氏 瓶 及 び 水 銀 マ ノ メ ー タ ー に 連 結 し、加 圧 に 依 る 脈 管 内 容 積 を ピ ペ ッ ト で 読 み 容 積 内 圧 曲 線 を 描 い て、三 者 の 伸 展 率 (容 積 拡 張 パ ー セ ン ト / 内 圧) を 比 較 検 討 し た。尚、実 験 は 出 来 る 丈 速 や か に 終 る 様 心 掛 け、又 常 に  $38^{\circ}\text{C}$  に 暖 め た Ringer 氏 液 の 中 で 実 施 し た。又 総 頸 動 脈・外 頸 静 脈・胸 管 の 伸 展 性 の 比 較 と は 別 に、胸 管 の 部 位 に 依 る 伸 展 性 の 差 を 見 る 為、第 1 ~ 第 2 胸 椎 部 胸 管 と、第 4 ~ 第 5 胸 椎 部 胸 管 及 び 第 9 ~ 第 10 胸 椎 部 胸 管 の 伸 展 率 を 比 較 検 討 し た。胸 管・外 頸 静 脈・共、5cm 水 柱 の 圧 で 最 大 の 伸 展 率 を 示 し た が、之 れ 以 上 の 加 圧 で は 伸 展 率 は 寧 ろ 低 い 事 が 判 っ た。尚、5cm 水 柱 の 圧 で は 胸 管 の 伸 展 率 が 外 頸 静 脈 の 伸 展 率 を 僅 か に 上 廻 る が、10cm 水 柱 の 圧 に 於 て は 外 頸 静 脈 の 伸 展 率 が 胸 管 の 伸 展 率 を 上 廻 り、之 れ 以 上 の 加 圧 に 依 っ て も こ の 関 係 は 変 ら な か っ た。又 胸 管 で は 30 ~ 35 cm 水 柱 の 圧 で、壁 の 破 綻 を 見 た が 外 頸 静 脈 で は 80 ~ 90cm 水 柱 の 圧 に 至 る 迄 伸 展 し、伸 展 の 巾 が 広 い 事 が 判 っ た。総 頸 動 脈 の 伸 展 率 は、外 頸 静 脈・胸 管 の そ れ に 較 べ 非 常 に 小 さ い が、加 圧 と 共 に 漸 増 し 90 ~ 140cm 水 柱 の 圧 に 至 っ て 最 大 の 伸 展 率 を 示 し た。今 総 頸 動 脈 の 最 大 伸 展 率 を 1 と す る と、胸 管・外 頸 静 脈・総 頸 動 脈 の 最 大 伸 展 率 の 比 は 11 : 9 : 1 と な っ た。又 胸 管 で は、部 位 の 如 何 を 問 わ ず 5cm 水 柱 の 圧 で 最 大 伸 展 率 を 示 し、そ の 値 も 略 同 じ で あ っ た が、之 れ 以 上 の 加 圧 で は 胸 管 上 部 の 方 が 胸 管 下 部 よ り 高 い 伸 展 率 を 示 し た。

## 15. 宮原昌彦 (鳥取大第2生理)

## 縮腫物質 CORNIN の腸管及び血管に対する作用

先に私は、我々の教室で見出された縮腫物質 Cornin の生物学的性状の研究の一環として、生殖器の平滑筋の運動を報告したが、今回は Cornin の腸管並びに血管に対する作用を追加報告する。実験方法は腸管の場合には、生殖器の場合と同様に剔出標本では Trendelenburg 氏法で容積及び縦径の変化を同時に描記しながら、Ringer 液槽中に Cornin 液 (角膜浸出液) を滴下した。生体内の運動ではゴム球でその運動を描記しながら大腿静脈に Cornin 液を注入した。実験動物は家兎、猫、犬を麻酔したり、或は無麻酔で除脳した動物を使用した。次に血管に対する作用を見るには、麻酔した犬を使用して後肢血管、腸間膜血管を栄養液で灌流しながら、灌流液中に Cornin 液を注入して、静脈から流出滴下する滴数の変化を Marey の描記器に導いて、その変化を追求した。又血圧は一侧の大動脈にカニューレを挿入して水銀マンオメーターに連結して描記しながら他側の大動脈に Cornin 液を注入して測定した。

## 実験成績並びに結論

1. 剔出腸管に対して Cornin は充進的に作用する。
2. 生体内においても剔出標本の場合と同様に充進的に作用する。
3. 血管に対しては、後肢及び腸血管ともに滴数が増加することから血管の拡張作用があると結論することが出来る。
4. 血圧は Cornin の静脈内注入により一過性に下降する。

## 16. 三好実三 (鳥取大第2生理)

## ネコの大脳皮質縮腫領野の遠心経路

ネコを用い上丘附近の種々の切断実験を行い、大脳皮質の縮腫領野の遠心経路を探究した。この実験の結果より大脳皮質の縮腫領野よりの遠心性線維は同側の視蓋前域を通り、中脳水道の脊側及び腹側で交叉し、すべて反対側の Edinger-Westphal 核に達すると考えられる。

この事と、一侧の大脳皮質縮腫領野の電気刺激により両側性の縮腫が惹起される事実とあわせ考えて、刺激側と同側の縮腫は両側の Edinger-We-

stphal 核間の連絡を設定しなければ説明出来ない。

## 17. 西田 勇・岡田博匡・中野 治 (鳥取大第2生理)

## 視蓋前域ノイロン群の光刺激に対する反応

ウレタン0.5g/kgまたはチアール40mg/kgで麻酔した非除脳ネコ、或いは一側又は両側大脳皮質を除去したネコを用いて、瞳孔対光反射の脳幹内求心路の一部である視蓋前域を露出し、この部位の単一ノイロンの活動電位を Ringer 氏液を満した微小電極によって誘導し、眼の光刺激によって引き起される同ノイロンの活動の変化を追究した。その結果の大様は次のようである。

1) 反応の型式を大別すると光刺激によって衝撃頻度の増大する促進型と衝撃頻度の減少する抑制型とに分けられる。

2) 促進型は次の三型に区別される。on-放出型：この型は光の照射期間中或いは照射の初期に一過性に放電活動の増加を示すもの。off-放出型：この型は光照射期間中に自発性放電は殆んど変化しないか或いは抑制され光照射の停止によって急激に放電活動の増大する型。on-off-放出型：光照射の初期及び照射停止直後の両相において放電活動の増大する型。

3) 抑制型もさらに次の三型に区別される。on-抑制型：光照射の期間中自発性放電が抑制され光刺激の停止によって直ちに照射前の放電頻度にかえる型。off-抑制型：この型は光照射期間中は殆んど自発性放電が変化しないか或いはわずかに抑制され光照射の停止に際して強く抑制される型。on-off-抑制型：光照射の初期及び停止時に自発性放電の抑制される型である。

4) 上述の6つの反応型のうち最も多く得られた型はon-放出型 (14点) 及び on-off-放出型 (13点) であり、ついでon-抑制型 (6点) 及びoff-放出型 (5点) であり、最も少い型は on-off-抑制型 (3点) 及び off-抑制型 (1点) であった。また各反応型の得られる部位は互に混在している。

## 18. 中村 正・千葉康則・永谷 忠 (山口医大第1生理)

## 簡便な動物実験用呼吸弁について

動物の呼吸実験の際、常に問題となるのは如何

なる呼吸弁を装着して、呼吸の調節を行なうかということである。従来より種々な考案がなされて来たが、実際に使用する場合は仲々困難である。我々は、気管内に挿入した三方カニューレを用いて非常に簡便な呼吸弁を考案、作製したので報告する。

#### Ⅰ. 装置及び方法

1) 5% $H_2SO_4$ を満たし、約40ccの空間を有する500ccの広口瓶2ヶに各々径0.7cm、長さ約15cm及び30cmのガラス管を挿入して、所謂噴水瓶を作る。長いガラス管が液中に達し入管とし、他の方は液に達せず出管とする。

2) 1つの瓶(A)の出管及び他の瓶(B)の入管に各々径0.7cm長さ約1mのビニール管を連結し、気管内に挿入した三方カニューレの2枝に各々連結する。

3) 呼吸は、吸気はA瓶のみを介し呼気はB瓶のみを介して行われる。

Ⅱ. 呼吸弁の抵抗に弁装着の有無に不拘呼吸数に著しい変化のないことより、抵抗は少ないものと思われる。弁装着後、時間経過に従って採取した空気、2% $CO_2$ 及び4% $CO_2$ 吸入時の呼気の $CO_2$ %、分時呼吸量及び呼吸数よりみて、 $CO_2$ 蓄積による呼吸変化はなく、従って問題となる死腔は殆んどないと推定出来る。呼吸弁装着後、呼気、吸気の定常化は被検動物の肺容量により異なるが、略々5分間以内と推定される。

Ⅲ. 猫、改善す可き点があるが、気管挿入による呼吸弁としては非常に簡便なものであると思われる。

#### 19. 千葉康則・永谷 忠・中村 正 (山口医大第1生理)

##### 自然呼吸による $CO_2$ 吸入の猫脊髄反射に及ぼす影響

先に人体のH反射に就いて其れに及ぼす $CO_2$ 吸入の影響を調べたが、これを更に詳しく調べる為に猫を用いて以下の実験を行った。

無麻酔除脳に2~15%の $CO_2$ を吾々の教室で考案した呼吸弁を介して吸入させ、後根を2.5秒おきに刺戟して前根より誘導される単シナプススパイクを指標として其の影響を調べた。

1) 2~4% $CO_2$ の吸入ではスパイクの振幅にはほとんど変化がないか、或はわずかの増大を認め

る。

2) 吸気 $CO_2$ 濃度が4%を越えるとスパイクの振幅は減少する。

3) 15% $CO_2$ を吸入させると経過中20~40秒位でスパイクは増大するが、以後漸次減少する。2.5分間の吸入でスパイクの振幅は対称の50%以下になったが、其の際潜伏時は0.2msec位延長していた。

4) 以上の成績は脊髄を上位中枢から切断した場合も上位中枢と連絡のある場合にもほぼ同様であった。

此等の事実より猫に就いても脊髄反射に対して効果が現われ始める $CO_2$ 濃度は、人体のH反射とほぼ同様の4% $CO_2$ 濃度以上であると言える。動脈血 $P_{CO_2}$ もこの程度の吸気 $CO_2$ 濃度より上昇すると思われるので、これは動脈血 $P_{CO_2}$ 上昇或いはそれに伴うpHの下降の脊髄に及ぼす影響と考えられる。

脊髄を切断してもしなくても以上の経過は殆んど変化がないので以上の $CO_2$ の効果は脊髄そのものに対する作用であると思われる。

4%以下の $CO_2$ 吸入の際のスパイク増大或は高濃度吸入時初期に於ける其れは動脈血 $P_{CO_2}$ の上昇の為に依る直接的な作用によるものか、呼吸或は循環系への影響の二次的な効果かは明かでない。

#### 20. 千葉康則・永谷 忠 (山口医大第1生理)

##### 脳幹と連絡せる脊髄反射に及ぼす抑制物質の作用

$\gamma$ -アミノ酪酸(GABA)が脊髄反射を減弱させ、 $\gamma$ -アミノ- $\beta$ -オキシ(GABOB)はその作用が弱いことはすでに報告した。今回は脳幹部との連絡ある脊髄反射に対する両物質の作用を検討した。

実験；除脳せる無麻酔猫を用い、腰仙髄を露出して、後根を刺戟し、前根で得られる反射スパイク(特にその単シナプス性のもの)を目標にした。薬物はいずれも1%のもの2mlを静脈より注入した。

結果；GABA注入後10秒目くらいより反射は亢進し、時に40%の亢進を示し、数分間持続して元にもどる。GABOBは多少の反射亢進を示すが、殆んど影響がない。これは、GABOBが血圧及び呼吸に対して、大して影響がない事実と一致する。

## 21. 足立 勳 (岡山大第2生理)

## 胃-大腸反射について

urethane-morphine 麻酔イヌにおいて近側結腸及び遠側結腸に長さ3cmのゴム球を入れ、これを水圧力計及び Marey の猫記歪に連結することによって大腸運動を描記しながら、胃幽門部を加圧伸展(40~120mmHg)し、大腸に起る反射を研究した。その結果は次のように総括される。

1) 胃幽門部を伸展すると近側結腸の運動は亢進あるいは抑制され、遠側結腸のそれは多くの場合亢進するが、ときに抑制される。

2) (a)遠側結腸の抑制効果は結腸、下腹神経を切断すれば逆に亢進効果をひき起し、ついで骨盤神経を切断すれば反射は消失する。(b)遠側結腸の亢進効果は骨盤神経切断により抑制効果に逆転し、ついで結腸、下腹神経を切断すれば反射が消失する。(c)この際結腸、下腹神経を切断する代わりに下内臓神経を切断しても抑制効果は完全に消失せず、さらに celiac root を切断すれば反射が消失する。

3) (a)近側結腸の抑制効果は、下腹神経切断により影響されないが、結腸神経切断により多くの場合減弱する。さらに骨盤神経を切断してもやはり抑制効果が見られる。ついで大小内臓神経を切断すると亢進効果に逆転し、迷走神経切断により反射は消失する。(b)近側結腸の亢進効果は、骨盤神経切断により、多くの場合わずかに減弱する。この際大小内臓神経切断は反射効果に関係しないが、迷走神経切断は反射を消失させる。

4) 近側及び遠側結腸に反射効果が見れるとき大小内臓神経切断により、遠側結腸の反射効果のみが消失し、ついで迷走神経切断により近側結腸の反射効果も消失する。

5) 上述の結果から胃-大腸反射の機序は次のようなものであると考えられる。すなわち胃伸展により胃壁に生じた求心性衝撃は、延髄の迷走神経中枢及び胸腰髄交感神経中枢と仙髄副交感神経中枢を興奮させ、迷走、骨盤神経を介して大腸運動に亢進的に大小内臓神経 (celiac root) と下内臓神経 (結腸神経、下腹神経) を介して抑制的に作用するが、中枢の興奮の程度あるいは大腸自身の興奮性の如何により、大腸運動に現れる総合効果が決定されることが考えられる。

## 22. 林 力 (岡山大第2生理)

## 膀胱-大腸反射

麻酔犬 (urethane 0.8g/kg および morphine 3mg/kg) の膀胱に約38°Cに温めた生理的食塩水を注入して加圧伸展した際にひきおこされる近側および遠側結腸の運動の変化をゴム球法によって研究し、その反射機序を探索した。実験結果は次のように要約される。

1. 膀胱の加圧伸展は多くの場合近側および遠側結腸の律動収縮の消失、緊張の低下を起したが稀には遠側結腸の緊張上昇を起した。

2. 上述の抑制反射効果は近側結腸では内臓神経および結腸神経を、遠側結腸では結腸神経および下腹神経を遮断すれば消失し、代って膀胱の加圧伸展は近側および遠側結腸の律動収縮の増強あるいは緊張の上昇を起した。すなわち促進反射効果を起すようになった。

3. 上述の促進反射効果は骨盤神経を切断すると消失した。また初めに促進反射効果の認められた例においては骨盤神経を切断すれば抑制効果がかわって起るようになった。

4. この反射効果は内臓神経および骨盤神経を切断し、下腸間膜神経節に1% methobromine を塗布した後は全く消失し、大腸運動には何等の変化もみられぬようになった。また腰仙髄の前根を全て切断し、さらに胸腰髄間で脊髄を横断した後も、反射効果は消失した。

5. 骨盤神経および下腹神経を切断すると上述の反射効果は消失した。その何れを残していても反射効果は認められる。

6. 第6胸髄の高さで脊髄を横断した後も上述の反射効果は認められる。

7. 1~7で述べた実験結果から、次のように結論される。膀胱の加圧伸展によって生ずる衝撃は下腹神経および骨盤神経を介して、脊髄の大腸運動を支配する胸腰髄交感神経核 (抑制中枢) および仙髄骨盤神経核 (促進中枢) の両中枢に達し、中枢の興奮をひきおこし、上記の胸腰髄交感神経あるいは骨盤神経を介して大腸運動を反射的に抑制あるいは亢進させる。しかし膀胱-大腸反射では抑制中枢の興奮が促進中枢のそれよりも強い事が多く、従って大腸運動は多くの場合抑制されるのである。

### 23. 越智邦夫 (岡山大第2生理)

#### 腸内反射誘起物質 (香辛料の作用)

香辛料は、嗅覚及び触覚に対し爽快な刺激を与え、食慾を増進させ、消化機能をたかめる作用をもっている。即ち反射性に消化液の分泌をたかめ腸管運動を盛んにすると云われている。しかしながら、香辛料が消化管運動に対していかなる影響を与えるかについては、これまで研究されていないように思われる。

私は香辛料についてこれが腸内反射をひきおこすかどうかを研究した。

ウレタン及びモルヒネで麻酔した 10kg 内外のイヌの腸管の一部を露出分離し、それに分布する腸間膜神経を切断した後、その小腸片の腸粘膜に種々の香辛料を卸し金で卸し或は細くきざんで乳鉢で摺り潰して適用し、適用部位の両側における腸管運動の変化をゴム球法により観察描記した。

辛辣性香辛料の内ニンニク、ニラ、ネギ、タマネギ、ラッキョウ、アサツキ、ワサビ、カラシは強力な腸内反射誘起物質である。即ち口側においては緊張上昇及び律動収縮の振巾の増大がおこり尾側においては緊張低下及び律動収縮の振巾の減弱が起る。ダイコン、コショウ、トウガラシ、シウガ等はその効果が弱い。

芳香性香辛料においてはレモンでは強く腸内反射が現われたが、他のもの即ち、ハッカ、パセリ、セロリー、シソ、ユズ等では全く運動の変化が起らなかった。

筋内反射については、辛辣性香辛料のうち粘膜反射は強く起すものは筋反射をも著明にひき起す。

### 24. 小谷 覚 (岡山大第2生理)

#### 正常呼吸運動における肋間筋の作用

正常呼吸運動における肋間筋の作用については一般的には、外肋間筋は吸息性であり、内肋間筋は軟骨部では吸息性で骨部では呼息性であると考えられている。しかし、麻酔イヌに筋電図学的方法を応用した Gesell の実験効果によると、時として第6肋間以下部位で、外肋間筋や内肋間筋軟骨部に呼息性活動電位を認めて居り、Bronk 等も部位については記載がないが、内肋間筋骨部を支配する神経に吸息性の衝撃を認めている。このような結果によれば、肋間筋の種類によって、その

作用を簡単に分類出来ないようである。

私は無麻酔除脳イヌを用いて肋間筋の働きの様相を筋電図学的に研究した。先端約10乃至20 $\mu$ の銀線をガラス毛細管に封入した電極を肋間筋に軽く刺入し、不関電極として銀の小板を近くの皮膚の創面に置き、肋間筋のスパイク放電を電磁オシログラフに記録した。その結果を要約すれば次のようである。

1) 外肋間筋の活動は、胸廓の上部においては殆んど常に吸息性であり、第5、6肋間では背方では殆んど常に吸息性であるが、腹方に近づくにつれて次第に吸息性活動は減弱し、遂には殆んど呼息性のみとなり、第7肋間より尾側の各肋間では殆んど呼息性となる。2) 内肋間筋の活動は、軟骨部は、第6肋間までは著明に吸息性であるがそれより尾側の肋間では呼息性の作用も認められる。また骨部では、第4肋間までの背方では比較的明瞭に吸息性であるが、それより尾側の肋間では殆んど呼息性となる。このように外肋間筋にも内肋間筋にも段階的な機能のうつりかわりが認められ、この事実から、肋間筋は解剖学的には一様の走行を示しているけれども、機能的には吸息性線維とが段階的にまじりあって居るものと考えられる。

### 25. 村上哲英・片岡 至 (岡山大第1生理)

#### 透過性に及ぼす温度—圧力効果

外から energy source を与えて、細胞はその energy を利用して、透過性を変化させていると云う Ponder, Ussing 等の所謂 active transport theory に、我々は更に physical energy として、温度や圧力も利用されるのではないかとの考えの下に、ヨツアナカンパンの未受精卵、gelatin block 及びタマネギの表皮細胞を用いて、種々の溶質の透過性に及ぼす温度—圧力効果を調べた。

0.5M 溶液中に保ったヨツアナカンパン未受精卵は500気圧加圧下の状態に於ては、常圧下のものに比して  $Ca^{++}$  を除き全て容積の著しい増大を示した。

Gelatin block も加圧群は常圧下のものに比して Sucrose を除き全て著しい容積の増大が見られた。常圧下では block を formaldehyde 液に浸けると、ある程度膨化した後それ以上の容積の変化が起らない。しかし、500気圧の下では時間と共に

に容積は増大し、硬化現象らしきものは認められなかった。

タマネギ表皮細胞の原形質分離開始時間は $20^{\circ}\text{C}$ に於て、500気圧下では常圧下よりもglycerin・25分、KCl・17分、 $\text{MgCl}_2$ ・15分、NaCl・12分、sucrose・10分、urea・8分、 $\text{CaCl}_2$ で7分の遅れが生ずる。400気圧以下では次第に両者の差は小さくなる。sucroseのみに関しては、 $30^{\circ} < 0^{\circ} < 10^{\circ} < 20^{\circ}$ の順に開始時間が早く、 $20^{\circ}$ 附近に最大の透過性のpeakを有して居り、圧力は高い程、透過性を高めている事が判明した。

原形質分離復帰時間に関しては、 $20^{\circ}$ に於て500気圧下と常圧下との差は、sucrose・80分、glycerin・

2分、KCl・1分、NaCl・1分、urea・0.5分程高圧下の方が早い。これは溶質、溶媒共に細胞膜の透過性を高めているものと考えられ、sucroseに関しては、温度が高い程、且つ圧力も高い程透過性も高めている事が判明した。

しかし、 $\text{CaCl}_2$ で15分、 $\text{MgCl}_2$ では3分、常圧下の方が早く復帰する。又、sucroseで30分原形質分離後（分離不十分）0.2Mのsucroseで復帰させた場合は常圧下の方が早く復帰する。これらは限られた大きさの細胞膜孔に、比較的大きい分子の $\text{Ca}^{++}$ 、 $\text{Mg}^{++}$ 、sucroseが1度に詰かけ、反って孔を塞いだ為に起ったrush phenomenaとでも云うべき現象ではないかと考えられる。