

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

原 著

永田清次	人間に於ける延滞運動条件反射形成過程の多様式記録による研究	1035
井口豊	比較生理学的に見たクルマエビ横紋筋のミオシンAの特殊性について	1051
荒冷政雄	学童に於ける自然条件反射の実験的研究	1064
勝野直	容積導体としての胸廊(Ⅱ)誘導軸を平行に移動した場合のR-loopの変化	1074
伊谷昭幸	運動単位導出の誘発筋電図による脊髄並びに神経筋間シナプスにおける促進及び抑圧の研究	1087
横井弥毅男	プラスミン系の特異的阻害物質ならびにその生理作用に関する研究(第1報)メルカプトカルボン酸及びその誘導体の抗プラスミン作用について	1098
横井弥毅男	プラスミン系の特異的阻害物質ならびにその生理作用に関する研究(第2報)アミノ酸及びその誘導体の抗プラスミン作用について	1103
横井弥毅男	プラスミン系の特異的阻害物質ならびにその生理作用に関する研究(第3報) ϵ -アミノ-n-カプロン酸の毒性試験ならびに若干のアレルギー現象に及ぼす影響	1109
田口静雄	多様式記録による延滞運動条件反射の消去及び汎化の様相について	1115
猪間そ	細胞内電極による網膜機序の研究(第1報)異った深さから得られる数種の活動電位について	1128
猪間そ	細胞内電極による網膜機序の研究(第2報)視神経の逆方向性刺激実験	1136

Originals

NAGATA-Seiji	Polygraphic studies on the formation process of the delayed conditioned motor reflex in human subjects	1035
IGUTI-Yutaka	Some special properties of the myosin A extracted from the striated muscle of lobster	1051
ARAREI-Masao	An experimental study of natural conditioned salivary secretion in primary school boys and girls	1064
KATUNO-Tadashi	A study of chest as a volume conductor (Ⅱ) The changes of R-loop by parallel displacement of the lead axis	1074
ITANI-Teruyuki	Studies on facilitation and depression in spinal and neuromuscular synapses by means of evoked electromyograms in motor unit leading	1087
YOKOI-Mikio	Studies on specific inhibitors to the plasmin system and their physiological action. I. The inhibitory effect of mercapto carboxylic acids and their derivatives	1098
YOKOI-Mikio	Studies on specific inhibitors to the plasmin system and their physiological action. Ⅱ. The inhibitory effect of amino acids and their derivatives	1103
YOKOI-Mikio	Studies on specific inhibitors to the plasmin system and their physiological action. Ⅲ. Some biological actions of ϵ -amino-n-caproic acid to the animals	1109
TAGUCHI-Shizuo	Polygraphic studies on the features of extinction and generalization of the delayed conditioned motor reflex	1115
INOMA-Sono	Study of the retinal mechanism by means of intracellular microelectrodes. Part I. Several types of action potentials from different depths in the retina	1128
INOMA-Sono	Study of the retinal mechanism by means of intracellular microelectrodes. Part Ⅱ. Antidromic stimulation of the optic nerve	1136

附：会報

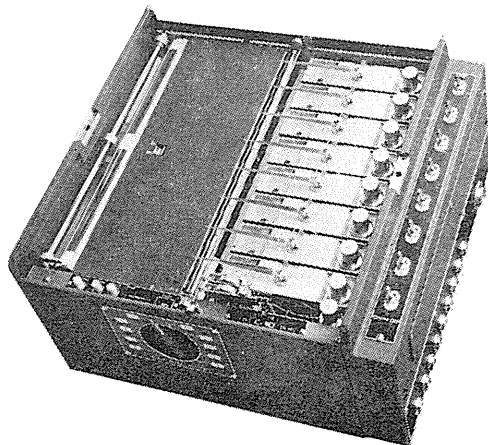
越智真逸君御逝去のお知らせ	1144
総会並びに地方会の演題申込みについてのお願い	1144
日本生理学会々費納入のお願い	1144

日 本 生 理 学 会

Physiological Society of Japan

インク書き

オシログラフ IR-201型



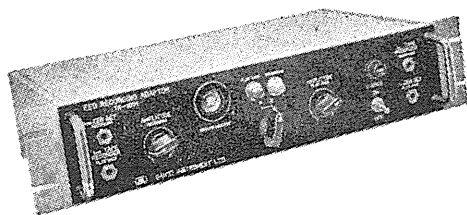
広汎な用途・安定な動作

- ・エレメント数 2, 4, 6, 8
- ・記録ペンの最大振巾 $\pm 20\text{mm}$, $\pm 25\text{mm}$
- ・記録速度の電氣的切換 1, 2, 5, 10, 25, 50, 125, 250mm/sec
- ・電 源 AC 100V, 50又は60c/s

直 流 増 巾 器 DA-103型

ラックパネル方式を採用

- ・電圧測定範囲 $0.001\sim 500\text{V}$
- ・最高感度 インク書きオシログラフと組合せて 1.5mA/mV
- ・周波数特性 $0\sim 3.000\text{c/s}$



レチノグラフ用

直 流 増 巾 器 DA-131型

心電図、ニスタモグラフ、レチノグラフ等の生体電気現象を忠実に増巾する。

- ・高感度
- ・電源はすべて交流
- ・広範囲の電源電圧変動に対して安定
- ・インク書きオシログラフ
電磁オシログラフ
ブラウン管オシロスコープ } と組合せることができる
- ・時定数 ∞ , 1.5, 0.2sec

主 要 製 品

脳波計・脳波分析装置・筋電計・麻酔監視装置・電気刺激装置・電気衝撃治療器・インク書きオシログラフ・電磁オシログラフ・直流増巾器・二現象オシロスコープ・ブラウン管連続撮影装置

誌名記入お申込次第カタログ呈



三 栄 測 器 株 式 会 社

本社 東京都新宿区柏木 1-95 TEL (371) 7117-8・8114-5

工場 東京都武蔵野市吉祥寺 1635 TEL 武蔵野 (022-2) 7825・4941

ご注意 当社は三栄製作所とは無関係でございます。

人間における延滞運動条件反射形成過程の多様式記録による研究 612.833.81

Polygraphic studies on the formation process of the delayed conditioned motor reflex in human subjects

永 田 清 次 (NAGATA-Seiji)*

I. 緒 言

中枢神経系の機能状態の科学的研究法として I. P. Pavlov³²⁾ によって創始された条件反射学は、その後多くの研究者によって幾多の業績が積み重ねられてきた。

しかしその追求の標示器(indicator)は主として純粋な反射で把えることのできる唾液分泌、内臓機能、GSR 等の自律神経系の機能が主であった。

例えば我国で条件反射学をPavlovから初めてもち来った林⁸⁾⁹⁾とその研究室の業績も須田³⁷⁾³⁸⁾を初めとして唾液分泌を指標としたものであり、林の系列に入る古武¹⁷⁾¹⁸⁾及びその研究室の業績も唾液分泌を中心としたものであった。

しかし条件反射の研究の指標としてはこれら自律機能の他に所謂 Bekhterev 法²⁾といわれる四肢の回避又は防禦運動反射のような局所運動応答があり、又瞬目反射、食餌運動のような指標もある。

これら運動条件反射の業績としては、海外ではアメリカの Hunter¹²⁾, Liddel²⁴⁾, Hunt¹³⁾, Hilgard¹⁰⁾及び Hudgins¹¹⁾等のものがあり、ソ連の Popov³³⁾, Makhova²⁷⁾ 及び Kislyakov²³⁾ 或いはポーランドの Konorski²¹⁾ 等の業績が見られる。我国では吉井⁴³⁾⁴⁴⁾ 及び拓植³⁹⁾等のものがあり、近年になって筋電図や脳波を用いての追求が吉井⁴³⁾⁴⁴⁾⁴⁵⁾, 時実⁴⁰⁾⁴¹⁾, 本川²⁹⁾³⁰⁾ 及び岩間¹⁶⁾³⁰⁾等及び Fink⁵⁾, Doering⁴⁾, Aleksev¹⁾, Mkrtycheva²⁸⁾ 及び Samsonova³⁴⁾等によって推進されてきている。

しかし、これらの研究も多くは動物実験によ

るものであって、人間を被験体としての追求は、あまり多くの業績を見ていない。著者の知る範囲では著者の教室の福岡⁶⁾, 岡村³¹⁾, 小谷²²⁾, 及び張³⁾の業績を見る程度である。

条件反射の類型には、同時延滞及び痕跡の条件反射があるが、上述の業績も多くは同時条件反射が主であって、人間を被験体としての延滞運動条件反射の追求は寡聞にして著者はその報告に接していない。

一方、ソ連では条件反射をあまり狭く制限していないらしく、最近の業績は運動反射にしても不快又は恐怖心を伴う電氣的衝撃を無条件刺激として使う方法はあまり行なわれず、むしろ先行言語指示法や言語強化法¹⁴⁾¹⁵⁾を用いてのいわゆる随意反応的な条件行動が中心となった系統的な優れた仕事が多い¹⁴⁾¹⁵⁾²⁵⁾⁴²⁾。我国でもこの見地に立つ研究として藤原⁷⁾ 及び松野²⁶⁾等のものがあり、今後この方面の発展が期待されている。しかし著者は無条件刺激によって強化されて形成された運動条件反射と言語を通して形成した随意的条件行動とは本質的に異なると考えたので、前者を運動条件反射と呼び後者を随意条件反応と呼んで区別したいと考えている。これは福岡⁶⁾のいうように信号系という立場からいえば、前者は第1信号系による強化であり、後者は第2信号系による強化であって、同系列上のものといえる。

何れにしても著者は両者間の相違を考えるが故に、人間を被験体とし延滞随意反応と延滞運動条件反射とを比較追求した結果、2, 3の興味ある知見を得たのでここに報告する。

なお、用語の上で、著者も福岡⁶⁾の見解に従って、反射と考えられる表出のみを反射((英) Reflex, (露) Réflex)と呼び、随意性のものは

* 東京歯科大学生理学教室(伊藤秀三郎教授)
〔昭和35年7月20日受付〕

反応 ((英) Reaction, (露) Reaktsia) と呼び、両者を含むか、或いは反射か反応か不明の場合には応答 ((英) Response, (露) Otvjet) と呼ぶことにした。

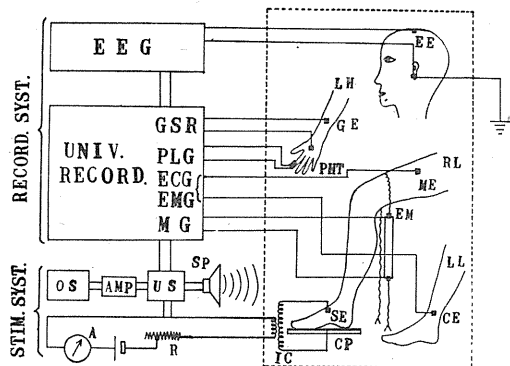


Fig. 1.

Apparatuses of Experiment.

STIM. SYST.: Stimulating system, OS: Oscillator, AMP: Amplifier, US: Dodge's universal stimulator, SP: Speaker, A: Ammeter, R: Variable resistor, IC: Induction coil, CP: Copper plate, SE: Stimulating electrodes.

RECORD SYST.: Recording system.

UNIV. RECORD.: Universal recorder, EEG: Electroencephalograph, GSR: Galvanic skin response recorder, PLG: Plethysmograph, ECG: Electrocardiograph, EMG: Electromyograph, MG: Mechanograph, LH: Left hand, GE: Electrodes of GSR, PHT: Photo-transistor, RL: Right leg, ME: Electrodes of EMG, EM: Electrodes of mechanograph, LL: Left leg, CE: Electrode of ECG.

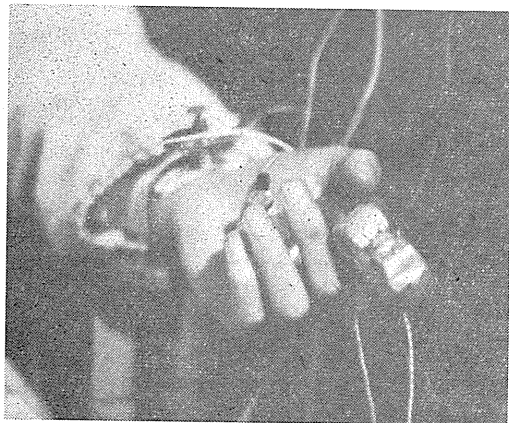


Fig. 2.

Left hand attached photo-transistor for plethysmogram and electrode for GSR.

Ⅱ. 実験方法

1. 被験者、実験日時及び実験室

条件反射に関する知識をあまり有しない健康成人6名を被験者とし、実験日時は随意運動を1960年1～2月に、運動条件反射を同年3～4月に行なった。

被験者は室温を20-25°Cに保った準防音の暗室で電気的にはほぼ完全に遮蔽された実験室内の安楽椅子に座らせ、第1図にしめす装置で脳波、心電図、筋電図、Mechanogram、脈波及び皮膚電気反射を記録した。

2. 応答の記録法 (Fig. 1, Recording system 参照)

著者は運動条件反射の総合的追求のため次の方法により多様式記録を行なった。

1) 脳波 閉眼安静状態における被験者の頭皮上よりの単極導出法により脳波を記録した。用いた脳波計は三栄製 (時定数 0.3 秒) で、分析に用いた脳波記録は主に左運動領野のものである。

2) 筋電図及び心電図 三栄製万能記録装置を用い挙肢応答の筋電図を右下肢の M. rectus femoris 上に貼布した表面電極法により導出し、同じ記録器の系統に筋電図の電極と左下肢踝部に装着した電極とにより心電図を導出し両者を同時記録した (時定数 0.05 秒)。

3) 挙肢運動の Mechanogram は右下肢の膝上部と床面とを両端とし、この間に硫酸亜鉛の入った呼吸計用のゴム管をつなぎ運動に伴う電気抵抗の変化を利用してその記録を行なった (時定数 3.0 秒)。

4) 皮膚電気反射は左上肢の手掌及び手首に装着した電極より電位差法により記録した (第2図参照)。時定数はこの反射の変化を見るのを目的とした為に 1.5 秒を用いた。

5) 脈波 左上肢の食指端に豆電球からの食指透過光線の僅かな変化を感じる photo-transistor を装着し、これより脈波を導出記録した (第2図参照、時定数 1.5 秒)。なお皮膚電気反射と脈波の記録時の紙送り速度は変化の観察を容

易にするために 2mm/sec とした。

上述の他、実験中は実験者の行動観察を怠らず又実験終了後は必ず内省報告を求めた。なお被験者には実験目的や内容は一切知らせなかった。

3. 刺激の付与法及び随意反応と運動条件反射との形成法 (Fig. 1, Stimulating system 参照)

これらの方法は福岡⁶⁾及び小谷²²⁾の同時運動条件反射の方法の一部を変形し延滞条件反射とした。その概要は次の如くである。

1) 随意反応 これは先行言語指示法によって形成した。即ち条件刺激（以下 CS と略称することもある）としては 700 c/s 約 55 db の矩形波音とし、先ず此の音を約 5 秒間隣室より提示し「この音が鳴り終わったら右足をあげて下さい」と指示した後 CS を付与し随意反応としての運動応答を起させた。

2) 延滞運動条件反射 これは前者と全く同じ CS 付与後直ちに無条件刺激（以下 UCS と略称することもある）である電氣的衝撃（以下 ES と略称することもある）を弱流（閾値より僅かに強い程度）中流（やや強い程度でこれにより無条件反射としての挙肢反射を生ずる）及び強流（非常に強い程度でこれにより相当な情緒＜ES にたいする恐怖心＞を伴う強い無条件挙肢反射を生ずる）の順序に組合わせて強化した。

ES は万能刺激装置により回路の開閉を瞬間的に行ない、UCS の強度は電源電圧及び感應 coil の捲軸距離の操作によって調節した。

なお UCS の強度は被験者の皮膚の電気抵抗や ES に対する情緒的抵抗力等の複雑な要素によって規定されるものと考えられ規格化し難いが大体において一次側電源電圧は 2-12V、電流は 0.5-1.5 A 及び捲軸距離 4-0 cm であった。

3) UCS の刺激電極 これはその上に足をのせておく銅板と足背に貼布する固定電極とである。従って条件反射の形成後、条件刺激のみによって挙肢運動が生ずるようになれば ES は回避することができるのであって、所謂道具的

条件づけ (instrumental conditioning) に相当する訳である。

従って著者の形成する条件反射は道具的条件づけによる回避性の延滞運動条件反射ということになる。

なお CS の持続時間や UCS の付与時を常に均一にするために万能可変刺激装置（山越製 Dodg's tachistoscope universal stimulator）を用いた。

なお刺激強度が異なる度に前強度による条件形成を消去してから次の実験を行なった。その方法をいえば随意反応の消去は形成と同様に言語指示法により、条件反射の消去は通常の消去工作法によった。10数回以上の消去工作によってもなお陽性応答をしている場合（挙肢すれば ES は回避されるので ES が組合わされていないことを知らないことがある）は時として、無強化であることを「今も電気ショックが来ますか」というように暗示したこともある。

4. 資料の整理法

脳波については視察による他、更に精密な検討を求める目的で小林¹⁹⁾の 72 項重調和解析法（分析時間 2.4 秒）によるスペクトル密度を求めた。筋電図、皮膚電気反射、運動の Mechano-gram 及び脈波は全体的特徴の視察及び潜時を測定し、心電図は波形の追求は行なわず心搏間隔の測定のみを行なうことにした。

Ⅲ. 実験成績

随意反応と運動条件反射との末梢表出の代表的な標示は運動応答なので、以下運動応答を主とし、その背景条件としての脳波、心電図、皮膚電気反射及び脈波を従とし、随意反応と運動条件反射とを比較して述べることにする。

1. 運動応答の比較について

1) 形成過程について

随意反応と運動条件反射との形成過程の相違を、条件反射では無条件刺激の強度差に分けて示すと次のようであった。

1) 随意反応は言語指示によって直ちに形成された。

2) 条件反射は無条件刺激の強度差によって次の如く異った。

A) 弱流刺激では個体差があり次の4型が見られた。但し同一被験者でもESの僅かの強度差により異なる反応型を示すことがあった。

a) 無条件刺激としてのESにも反応せず、運動条件反射も出現しない者(但しこの場合も後述するようにGSR及び脈波の条件反射は形成された)、b) 無条件反射としての挙肢運動は出現したが、運動条件反射は形成されない者、c) 強化時にもテスト時にも運動反射が現われる者即ち弱流刺激でも運動条件反射が形成される者及びd) 前述のbとcの混合する者。

B) 中流及び強流刺激では弱流刺激の場合のように個人差は現われず、全被験者に運動条件反射が形成された。

形成に至るまでの強化回数は弱流刺激では算出できないが、中流刺激では3-8回、強流刺激では1-3回であった。即ちESの強度が大になるに従い形成に至る迄の強化回数は減少した。なお中流及び強流においては一旦回避性挙肢運動条件反射が形成されてからは条件反射の脱落は殆んどなかった。

2) 潜時について

挙肢応答の潜時は実験条件により顕著な相違を示した。その代表的な1例について示すと第1表、第4図の如くで、筋電図の例を示すと第5図の如くである。潜時の測定は条件刺激の終る時点を零とし、これに先行するものには(-)記号をつけ、これより遅れて現われるものには

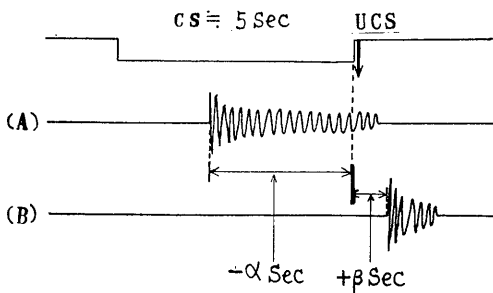


Fig. 3.

Measuring method of leg up latency from the end of CS.

Table 1.
Latency of leg up response in voluntary reaction and conditioned motor reflex.

No.	Conditioned motor reflex			Voluntary reaction
	Heavy ES	Medium ES	Light ES	
1	-3.630	-0.607	+0.120	+0.198
2	-4.158	-1.122	—	+0.231
3	-4.521	-0.660	—	+0.198
4	-4.521	-0.739	—	+0.284
5	-3.894	-1.122	+0.120	+0.416
6	-3.267	-1.089	-0.099	+0.231
7	-3.201	-1.122	-0.284	+0.165
8	-3.366	-1.650	-0.133	+0.284
9	-2.937	-0.792	-0.147	+0.198
10	-3.214	-1.221	+0.231	+0.317
11	-4.475	-0.937	+0.133	+0.198
12	-3.300	-0.660	+0.120	+0.297
M	-3.707	-0.976	—	+0.251
S.D.	0.5572	0.2912	—	0.0678

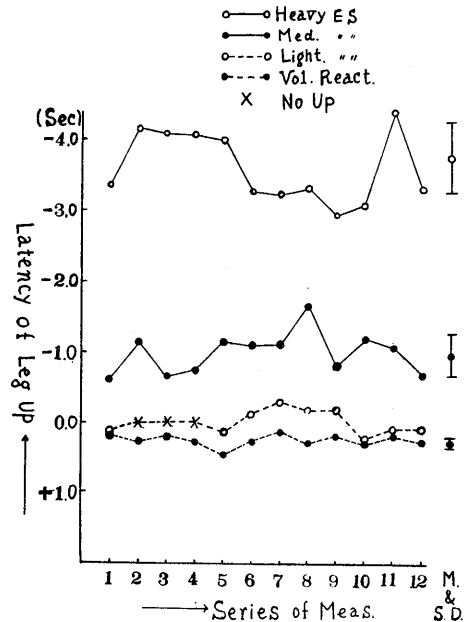


Fig. 4.

Latency of voluntary reaction and conditioned reflex.

(+) 記号をつけて区別した (第3図参照)。

これらの図表に現われ、また他の実験例でも見られた潜時についての共通的特徴を概括すると次のようであった。

1) ES 即ち無条件刺激が強くなるに従い条件反射は早く現われるようになる。例えば強流刺激時には UCS は CS を開始してから5秒の後に即ち5秒間の延滞後に与えられるのに拘わ

らず、CS 開始後 1-1.5 秒後に反射が起っている (第 1 表及び第 4 図参照)。

2) 弱流刺激時には反射の脱落することがあるのは前にも述べたが、反射が起る時は一般にその潜時は随意反応のそれよりも短い、又時として CS 終了時より先に反射が起る事もある。

3) 筋電図及び Mechanogram について

上述の諸応答時の筋電図の数例を示すと第 5 図の如くである。

これらによると、1) 前述の条件反射における延滞時間の短縮が明瞭に見られ、2) 一般に随意反応の筋電図の持続時間 (第 5 図 A 参照) は条件反射のそれ (同じく B, C, D 及び E) より短い事などの特徴が見られる。なお条件反射の C, D 及び E には振幅の大きい運動性と考えられる筋電図 (Kinetic EMG) の前に振幅の小さい緊張性の筋電図 (Tonic EMP) が明らかに出現しているのは興味ある現象である。

次にこれら各種応答時の Mechanogram を示すと第 6 図の如くである。但しこれらの図は時定数が異っているので挙肢の持続時間を考察する資料となるに止まり波形は比較できない。

これらによると随意反応の持続時間が短かく、条件反射では ES が強くなるに従い持続時間が長くなっている。

なお、強流刺激時の条件反射の形成初期に刺激間応答⁶⁾ 即ち CS を付与しない時にでも時として他の音響 (例えばスイッチの開閉音や靴音又はドアの閉まる音等) にも挙肢反射を示したことがあった。その 2 例を示すと第 7 図 A, B の如くである。また被験者 6 例中 ES に異常な恐怖感を持った 1 例にのみ見られたことであるが、中流及び強流刺激時には延滞性が殆んど消失し CS 開始後直ちに挙肢反射を示した者があった。その筋電図及び Mechanogram を示すと第 7 図 C, D の如くである。なおこのような被験者に前述の刺激間応答が多く見られた。

この第 7 図 A, B に示されるように、刺激間応答は挙肢はしているがその運動量は条件反射のそれ (第 5 図参照) に比べて一般に小さい。また延滞性の消失した被験者の条件反射時の筋

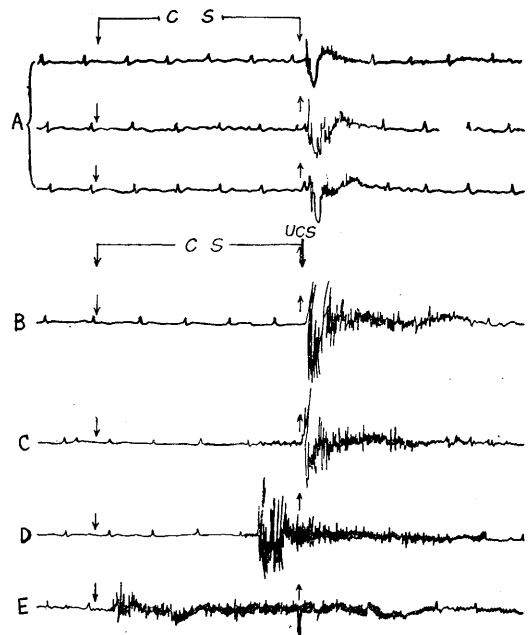


Fig. 5.

EMG of voluntary reaction and conditioned motor reflex.

(Note) A: voluntary reaction, B: at reinforcement, C: C. R. (conditioned reflex) in light stimulation (test), D: C. R. in medium stimulation, E: C. R. in heavy stimulation.

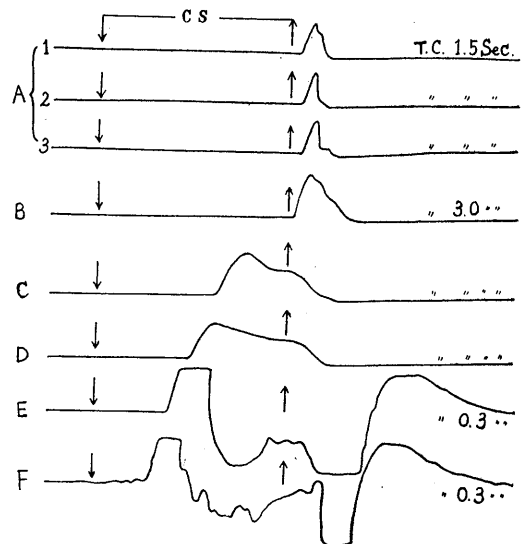


Fig. 6.

Mechanogram of voluntary reaction and conditioned motor reflex.

(Note) T. C.: time constant, A: voluntary reaction, B: conditioned reflex in light stimulation, C and D: C. R. in medium stimulation, E and F: C. R. in heavy stimulation.

電図は振幅も大きく持続も長く、強い興奮の表出が見られる。

なお、延滞時間の短縮或いは消失した時の被験者の内省報告によれば、「ES は CS が終わってからでなければ来ない事は分っているが、どう

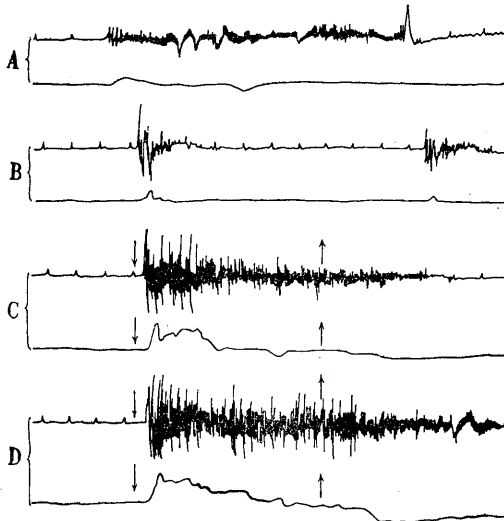


Fig. 7.

EMG and mechanogram of leg up response between C. S. stimuli (A, B) and non-delayed conditioned motor reflex (C, D).

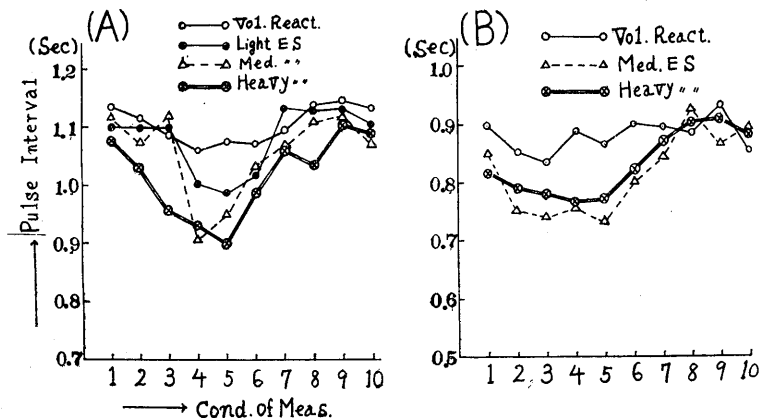


Fig. 8.

Change of pulse interval in voluntary reaction and in reinforcement of conditioned motor reflex (Case A and B).

(Note) Cond. of Meas.: conditions of measurement, 1: subject was out of the experiment room, 2: when led to the room, 3: when attached the electrodes, 4: at the early stage of reinforcement, 5: at the middle stage, 6: at the later stage, 7: at the end of experiment, 8: at rest in experiment room, 9: at rest out of the experiment room, 10: after 10' rest out of the experiment room.

しても足が挙ってしまふ。ES が恐ろしいからでしょうね」と答えていた。

2. 運動応答の背景条件としての心電図、GSR 脈波及び脳波について

延滞運動条件反射はそれだけが単独に突如として形成されるものではなく、これに随伴する種々な背景条件の上に形成されることは次の成績から示唆される。

1) 心電図について

随意反応及び条件反射の実験前後と実験（条件反射は強化時）の初、中、後期の心搏間隔を、それが比較的長い1例と短い1例について図示すると第8図A, Bのようになる。なおこの測定は電極を装着している時は心電図により、その他の時には触手法により数分間行ないその平均をとった。挙肢運動時には心搏間隔が少し短縮することが多いので、運動後なるべく時間がたってから測定するようにした。

これらによれば、一般に心搏間隔は実験前よりも実験終了後の方が長くなる傾向があること、随意反応の実験過程中は大きな変化はないが、ES を組合わせる強化過程は短縮する、特に中流或いは強流においてその傾向が大きいこ

と、及び強化時には初期と中期が最も短縮すること等が見られた。

次に強流刺激実験終了後、被験者に「実験が終了したがそのまま安静にしているよう」に指示し、心搏間隔が延長した時、「都合で後暫く強い ES で実験をしますからもう少し我慢していて下さい」と宣言し、その経過を見ていると短時間の中に心搏間隔の短縮が見られた。その間隔と心電図及び筋電図とを示すと第9図の上図及び中図の如くである。なおこの時、

前述の刺激間応答に似た自発性挙肢応答が現われたのでその Mechanogram を示したのが同図の最下図である。

これによると何等の運動もしていないのに拘わらず心搏間隔が短縮することが明らかに見られる。この例及び第8図で示した随意反応と条件反射とでは挙肢の運動量には大差ないのに後者の方が心搏間隔の短縮が大きいことは、この短縮が運動に伴うものではなく実験条件の相違即ち無条件刺激である ES によって強化された為に生ずる情緒性のものであることを示していると考えられる。

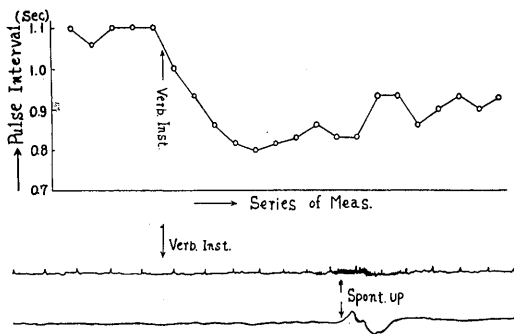


Fig. 9.

Change of pulse interval when subject was declared to begin experiment again after the end of it. (Note) upper figure: change of pulse interval, middle figure: ECG and EMG, Verb. Inst.: verbal instruction of declaration, spont up: spontaneous leg up, lower figure: mechanogram of leg up.

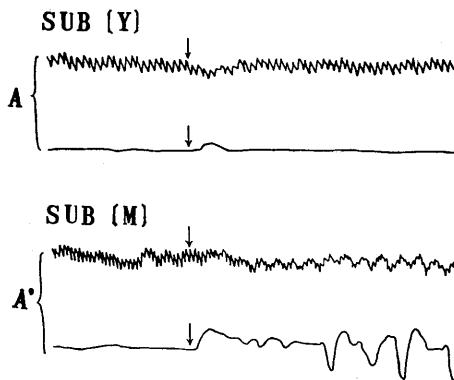


Fig. 10.

Plethysmogram (upper line) and GSR (lower line) at verbal instruction of voluntary reaction. (Note) Arrow shows the point of instruction.

2) 脈波及び GSR について

先に著者等⁴⁶⁾が発表したように CS に対する脈波及び GSR の適応の過程は両者ともその傾向は大体似ているが、精神活動(暗算など)や情緒の変動に対しては脈波の方が遙かに鋭敏で適応も消去も困難であった。そこで著者は両者を同時にとりあげてその経過を追求することとする。

1) 随意反応における脈波及び GSR について CS (音刺激) に適応後、先行言語指示法により随意挙肢反応を命じた際の脈波及び GSR の変動を2例について示すと第10図の如くである。なおこれら2例の被験者は日常生活の行動観察の印象から、Yは情緒的安定度が高く、Mは普通よりもやや低いように考えられていたものである。

これによれば言語指示により、脈波はYでは僅かに、Mには相当な変動をひきおこしているのが見られ、GSR にもそれに相当した変動を

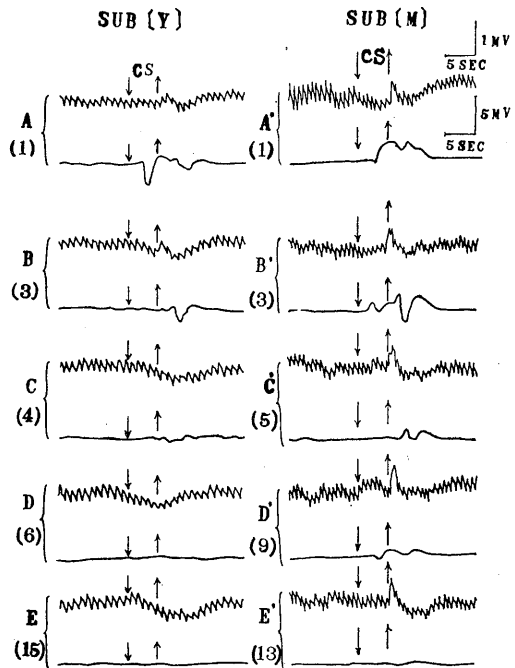


Fig. 11.

Changing process of plethysmogram and GSR in voluntary reaction.

(Note) Numerals in round brackets show the number of trials.

起している。これらは言語指示により被験者の精神緊張状態が若干高まったことを示しているといえよう。なお例 (M) は GSR が安定しないので「何も恐ろしいことはないのだから気持ちを落ち着けて下さい」と指示したが暫くして安定した。

次に随意反応時の両者の推移を代表的な2例について示すと第11図の如くである。図において例 (Y) は GSR が短時間で安定した者、例 (M) は比較的安定のおそい例である。

この第11図に示すように、GSR は実験初期には現われるが、やがて数回-10回内外のCS付与により適応し、遂には殆んど平坦化し何等の変動も起こさないようになったが、脈波の変動は著者の実験範囲内では遂に消失しなかつ

た。

なお例 (M) の A' では言語指示により脈波の全般的な収縮が収まるのを待って暫時休憩後初めてのCS付与の為に振幅の顕著な短縮が見られる。又同例のCS終了時の脳波の変動(急激な上昇)は拳肢の影響で起った体動(指先の動揺)による artifact ではないかと考えられる。

第12図は情緒的安定性の高いと考えられる例 (Y) で、条件反射の実験後(形成-消去後)条件反射のCSと同じ刺激をCSとして使って随意反応をさせた場合の脈波とGSRである。

これによると、例えば左上の初めの図で矢印の所は随意反応の言語指示をした所で、これは第10図のAと同じ実験条件であるが、GSRの動揺は遙かに大きいことが見られ、又その後もCSに応じて激しい変動をしめし、しかもそれが容易に消去しないことが見られる。即ち拳肢応答の性質からいえば随意反応ではあるが、その内容には条件反射の影響が多分に含まれていることを示しているといえよう。

2) 運動条件反射における脈波及びGSRについて

運動条件反射における脈波及びGSRは被験者によって多少

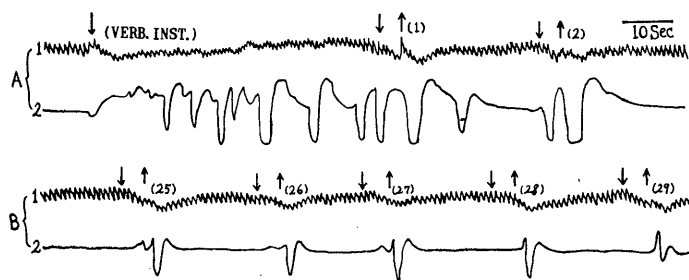


Fig. 12.

Plethysmogram and GSR in the experimental process of voluntary reaction after the extinction of conditioned motor reflex in heavy electric shock.

(Note) This subject was same as Sub. [Y] in Fig. 10 and 11. Numerals in brackets show the number of trials.

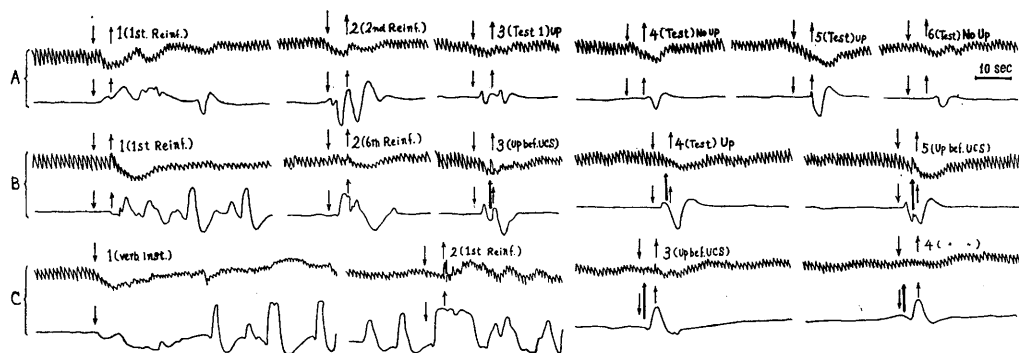


Fig. 13.

Plethysmogram and GSR in the stimulation of light (A) medium (B) and heavy electric shock.

(Note) Reinf.: reinforcement, up: leg up, No up: leg no up, up bef. UCS: leg up before UCS, Verb. inst.: Verbal instruction to begin experiment, big arrow between plethysmogram and GSR shows the beginning point of leg up before UCS.

の差はあるが、その傾向はほぼ一致しているので、その代表的1例について UCS の強度差(弱, 中及び強流)によって主としてテスト時の数例を示すと第13図の如くである。図において弱流刺激の1は第1回の強化, 2は強化4回目, 3は10回強化後の第1回のテスト(挙肢反射出現), 以下4, 5, 6は何れも10回ずつ強化を挿入した時のテストであるが, 5は挙肢反射出現, 4, 6は挙肢反射の現われなかった時のものである。中流は弱流とほぼ同じ実験条件であるが, 3, 5は強化時で挙肢反射が UCS に先行した時, 4はテスト時のものである。脈波と GSR の間の上向きの太い矢印は何れも挙肢反射の起った時点を示してある。強流刺激時の1は電極装着後「ではこれから実験を始めます」と言語指示を与えた時のもので, その他は中流とほぼ同じである。

これらの図によると次のような成績が見出された。(A) GSR の動揺及び脈波の振幅の短縮は UCS が強くなるに従い大となった。(B) 弱流及び中流では第1回の強化により, 強流では「実験開始」の言語指示および第1回の強化により——その時は前の段階の条件反射は消去されている——脈波の振幅は減少し GSR は激しい動揺を示した。しかし, (C) この動揺は強化進行に伴い(但しこの強化は UCS に先行する回避反射が起れば ES は与えられない)次第に減少し安定した。(D) 一般の脈波の変動と GSR のそれとは一致していた。(E) 弱流刺激時には本図の弱流の4, 6に示すように挙肢条件反射は形成されない時でも GSR 及び脈波の条件反射は形成され, GSR の潜時は初期には同図2, 3に示すように CS による反射と UCS による反射との2峯になるが, 強化進行に伴い同図, 4, 5, 6に示すように CS 開始による反射は消失し, CS の終了即ち UCS 付与時に当る反

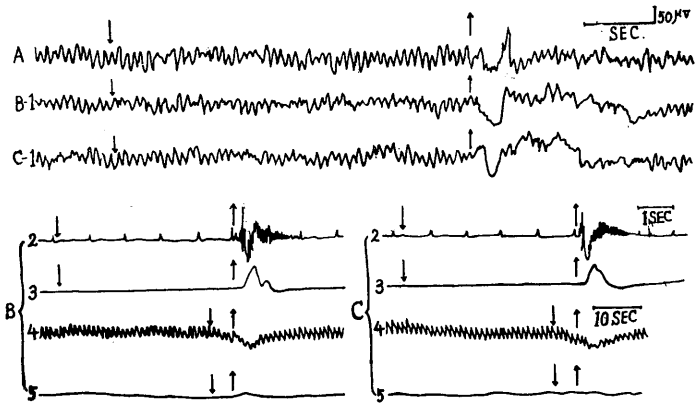


Fig. 14.

EEG (A, B-1, C-1), ECG and EMG (B-2, C-2), mechanogram (B-3, C-3), plethysmogram (B-4, C-4) and GSR (B-5, C-5) in voluntary reaction.

(Note) See the difference of the timing.

射のみが残った, 脈波は GSR 程明瞭でないがほぼ GSR に対応して初期 (A の 2, 3 参照) は 2 変化, 強化進行に伴い 1 変化 (A の 4, 5, 6 参照) となる様相がうかがえた。(F) 中流及び強流は第5図の挙肢反射の筋電図で示したように挙肢反射は UCS に先行したが, GSR 及び脈波の変動もこれに相応して変化した。即ちこれらの変動の時期が前進し潜時が短くなり UCS の終わらない中に現われるようになった。なお前述のように脈波と GSR は常に一致して変動するわけではなく, CS に対する適応は脈波の方が遙かに困難であった, 但し強流では脈波の全般的収縮が著しく, 条件性変動はあまり認められなくなった (C の 3, 4 参照)。

3) 脳波を主とする総合的成績の特性について

著者はこれまで筋電図, Mechanogram, 心搏間隔, 脈波及び GSR 等主として末梢表出を指標として運動応答との関係を述べてきたが, 以下では中枢活動の指標として脳波を中心とし同時記録した上述の末梢表出を含んで全般的背景条件の成績について述べる。

1) 随意反応における脳波を主とする総合成績について

第14図に随意反応の脳波 (A, B-1, C-1), 心電図, 筋電図 (B-2, C-2), Mechanogram (B-3, C-3), 脈波 (B-4, C-4) 及び GSR (B-5, C-

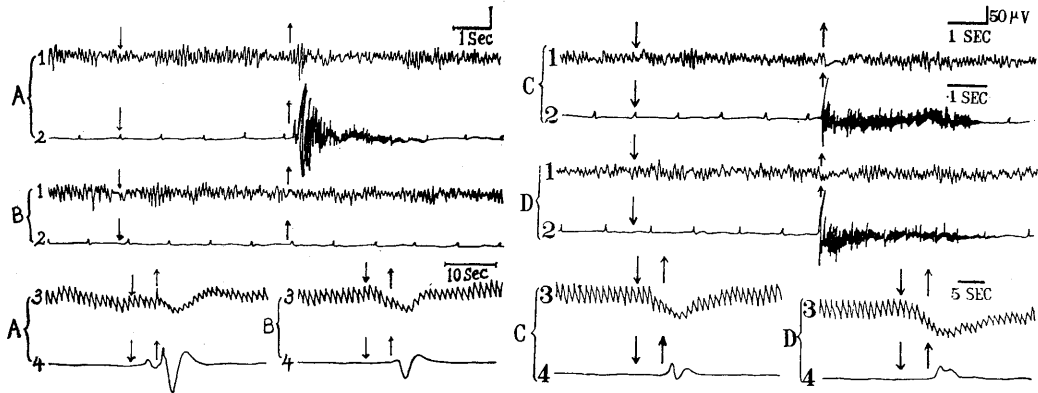


Fig. 15.

EEG (1 in A-D), ECG and EMG (2 in the same), plethysmogram (3 in the same) and GSR (4 in the same) in the stimulation of light electric shock.

5)を示す。但し本図に示したものは何れもある程度随意反応を繰返し、GSR は殆んど適応した後のものである。

これらによると脳波にはCSによる変化は認められず、挙肢反応の時のみ α 波の抑制の如き様相が認められただけである(但しこれも挙肢のためのartifactの妨害により明白に見ることはできず、そうであろうと推定されるだけである)。その他の記録でも上述した他は大なる変化はなく、只脈波だけに明瞭な振幅の減少が現われた。

2) 弱流刺激時の条件反射における脳波を主とする総合成績について

その成績の一部をしめすと第15図の如くである。図においてAは強化刺激により無条件挙肢反射を起した場合、Bは強化10回後のテストで挙肢反射は生じていない、C及びDは条件挙肢反射を生じているものである。

これらの成績によると著明な脳波変化はAのUCS後、C及びDのCS終了後に α 波の抑制として現われ、これに対応して脈波にもGSRにも変動が現われている。挙肢反射の現われないBでは脳波の変化はあまり見られないが脈波やGSRには相当顕著に変化が見られる。このことは脈波又はGSRの条件形成は運動性の条件形成より容易に且つ早く行なわれることを示しているといえよう。

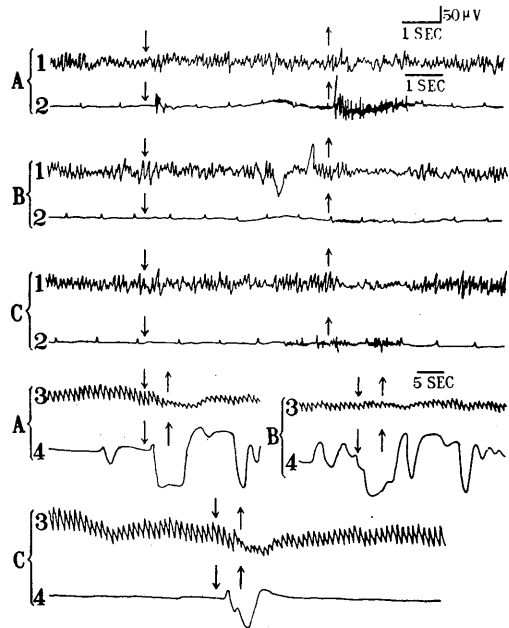


Fig. 16.

EEG (1 in A, B, C), ECG and EMG (2 in the same), plethysmogram (3 in the same) and GSR (4 in the same) in the stimulation of medium electric shock.

3) 中流刺激時の条件反射における脳波を主とする総合成績について

全被験者に同様の傾向を得たので、その中の1例の成績の一部を示したのが第16図である。図においてAは強化時、BおよびCはテスト時で、Bは筋電図上に緊張性の放電だけが見られ運動性の放電は未だ現われていない時、Cは条

件反射が CS 終了前 (UCS 前) に起っている時のものである。

これらの図によると脳波には CS 終了後に明白な α 波の抑制が現われ、脳波上の変化は脈波あるいは GRS と一致しているが、これと筋電図の様相とは一致していない。強化進行に伴い GSR の動揺が安定し、脈波の全般的な振幅の短縮が再び拡大してきているのは前述の通りであるが、この長時間にわたる全般的収縮と脳波との関係は視察上では見出せなかった。なおこの問題については実験成績の最後の項で述べる。

4) 強流刺激時の条件反射における脳波を主とする総合成績について

強流刺激時の条件反射の総合成績を 1 例について示すと第 17 図の如くである。ここで A は強化第 1 回目のものであり、B、C、D は順次強化進行に伴う成績である。

これらの図によると、弱流又は中流刺激時に比べ拳肢反射が CS 開始後間もなく起るようになり延滞性が消失し、拳肢の持続時間が延長し、脈波は全体を通じて振幅が縮小したままで CS 開始、又は終了によりあまり変動しなくなり、GSR の変動が顕著になった等が見出される。図の B-1、C-1、D-1 に脳波では拳肢運動開始に先行して徐波が若干現われるようにも見えるがあまり明白ではない。又 CS 終了後は明白な α 波の抑制と β 波の増強が顕著になっている。しかし筋運動の激しく起っている時期に脳波は左運動領から導出しているに拘わらずその変化は殆んど見られず両者間に関連がないように見える。

5) 強流刺激の実験終了後再び実験を宣言した時の脳波を主とする総合成績について

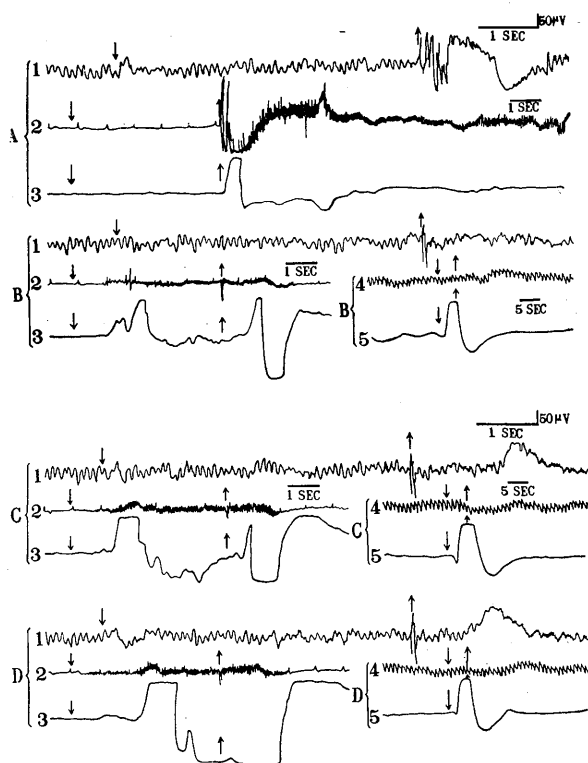


Fig. 17.

EEG (1 in A-D), ECG and EMG (2 in the same), mechano-gram (3 in the same), plethysmogram (4 in B-D) and GSR (5 in the same) in the stimulation of heavy electric shock.

(Note) About explanation, see this text. As regards plethysmogram and GSR of A series, see 2 in C series of Fig. 13 (1 st Reinf.).

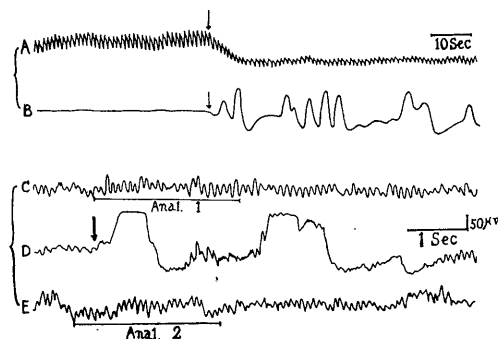


Fig. 18.

Plethysmogram, GSR and EEG when the subject was declared to begin experiment again after the end of it. (Note) arrow shows the point of declaration of reexperiment. Under lines of EEG (Anal. 1 and Anal. 2) show the part of calculation of power spectrum (see Fig. 19.).

この状態の心搏間隔の短縮は前掲第9図に示したが、この時の脈波、GSR 及び脳波を示すと第18図の如くである。

これによると初め被験者は強流刺激の実験が終了し緊張から解放されたらしく、脈波の振幅は増大し脳波は安静時の典型的のような様相をしめすが、再実験を宣言すると脈波は収縮し、GSR は自発性の動揺が頻発し、脳波は異常な乱れを呈した後やや安定するという経過を辿った。実験前後の比較的安定した所（第18図のC及びEの下線部分）を小林¹⁹⁾の重調解析によってスペクトル密度を算出すると第19図の如くである。

これによると再実験の宣言前即ち安静時の最大の峯は 9.5 c/s にできているが、これに相当する宣言後の峯は 10.8 c/s になっている。宣言前の被験者の状態は強流刺激による多数回の強化工作により相当な疲労が蓄積した後に緊張から解放された所の疲労と安静状態であり、宣言後のそれは再び緊張が高まった状態であるといえよう。このような状態の相違が第19図に示したように必ず中心周波数が α 波帯域の中で徐 α 波から比較的速 α 波に変るといような変化を示すとは断言できないであろうが、この成績は

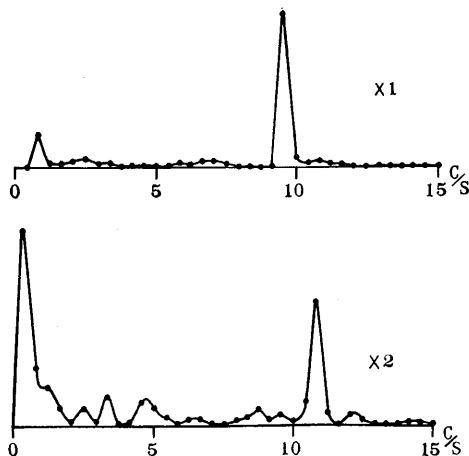


Fig. 19.

Power spectra of EEG showing in Fig. 18.

(Note) upper figure : at resting state in the end of experiment, lower figure : mentally strained state after the declaration of reexperiment.

その特性の一面を表わしているといえる。

以上随意反応と各種強度の UCS による延滞運動条件反射とを多様式記録で得られた成績を中心として述べたので、次にその中の顕著な特性について考察を試みる。

Ⅳ. 考 察

以上の実験成績の中で著者が最も興味を抱いたことは、延滞運動条件反射における UCS の強度を弱流から中流に、更に強流に強くするに従い回避性挙肢反射の潜時が短縮するということである。即ち被験者は UCS である ES が CS 終了時に付与されることを知っていながら中流或いは強流刺激では挙肢反射が CS 終了前に、或いは CS 開始後間もなく起るようになる事である。

須田³⁷⁾は唾液条件反射の実験の結果、「外界から個体に刺激が与えられると、大脳皮質には興奮過程と制止過程が共に同時に起り、条件反射効果はこの両過程の何れが強いかによって陽性又は陰性に現われる」と述べている。この見解と著者の前述の成績とを考え合わせると、UCS の強度が強くなるに従い、中枢に起る所の CS 終了点に頂点をもつ興奮過程は強くなり、延滞制止を次第に凌駕し陽性反射の起る点が CS の方に喰い込んでいったものと考察される。UCS が強くなるに従い挙肢運動の持続時間が延長するのもこれと同様の機制によると考えられる。換言すれば著者の成績は須田の興奮過程と制止過程とに関する見解に一致する成績であると考えられる。第7図に示した刺激間挙肢や同図に示した延滞性の消失及び第9図に示した強流実験終了後再実験宣言によって生じた自発性挙肢等は何れも条件反射の形成初期や再実験宣言時等の興奮過程が全般的に高まっていると推定される時期に発生したことも、上述の考察を裏書きするものと思われる。

次に随意反応では適応後も脈波反応は生じているが GSR は現われず心搏間隔も短縮しないが、条件反射はその形成過程を総合的に見ると弱流刺激時の運動反射の形成されない時でも脈

波、脳波及び GSR の条件反射は形成され、初めて運動条件反射が完全に形成されるのは中流以上の刺激になってからであること、強化開始即ち ES の付与に伴い又刺激強度が増すに従い脈波の全般的収縮と心搏間隔の短縮が見られること、又実験終了後に再実験の宣言をただけで脳波に変化を生じ、脈波は全般的に収縮し、GSR は自発性動揺が頻発すること等の現象が見出される。これらの現象から、著者の方法による運動条件反射の形成にはその先行或いは基礎的条件として脈波、脳波、GSR の順序で条件づけが成立し又心搏間隔の短縮等が存在することを示すものと考えられる。そしてこれらの現象は脳波以外は殆んど情動の表出であると考えれば、運動条件反射の形成には激しい情動過程がその基礎にあると考えられる。これは吉井⁴³⁾、福岡⁶⁾、岡村³¹⁾及び張³⁾等のいう条件反射の形成の下地には情動的变化があるという見解とも一致している。随意反応では GSR は出現しないが、運動条件反射では程度の差はあるが、著者の実験範囲内では必ず GSR が生ずることもこの見解を支持する一資料であると考えられる。

しかし、再実験宣言又は強化の初期に見られる顕著な脳波の乱れ(第18図参照)、脈波の全般的収縮、GSR の自発的動揺及び心搏間隔の短縮等の現象は強化の進行に伴い換言すれば条件形成の完熟に伴い次第に安定していく(脈波では全般的収縮がやみ再拡張に向っていく)ことは、運動条件反射の形成の下地には情動過程が存在するが、一旦条件形成が行なわれたならば、それは次第に鎮静していくと考えられる。しかし、この経過は運動条件反射の形成といういわば学習過程に必ず伴うものなのか、著者の行なった実験法が挙肢反射が形成されれば ES を回避できるという道具的条件づけであるためかは明らかにすることはできなかった。

脳波と脈波及び GSR の相互関係においては明確な法則は見出せないが、少なくとも条件反射に関する限りでは CS 終了時の α 波の抑制時には脈波及び GSR に変動が生ずるというよう

に一応の対応は認められるが、その逆は必ずしも起っていないようであった(例えば第15図、第16図参照)。著者の実験範囲ではこれら3者間の内部機制の追求はできないので、本質的にどのような関連があるかは明瞭にすることはできなかった。

なお、随意反応では挙肢運動の生じている間は、一般に、脳波上にも α 波の抑制という変化を生じるが(第11図参照)、運動条件反射の形成後は運動量が大きく、持続の長い挙肢運動が生じているにも拘わらず、脳波はその間殆んど変化を生じていない。これらの相違は、末梢表出の面からは均しく挙肢運動として現われていても、その中枢機制の面からは、随意運動と条件反射との間には相違があることを示しているものと考えられる。

第1表に示したように随意反応の潜時は CS 終了後平均 0.251 ± 0.068 秒であったが、条件反射の潜時は UCS の強度差によって異なることは既に指摘した通りであるが、弱流刺激時の CS 終了後の条件挙肢反射の潜時は $0.120-0.231$ 秒というように一般に随意反応のそれよりも短かった。この事実は福岡⁶⁾の同時運動条件反射の潜時に近い成績であり、随意反応と運動条件反射とが異なる中枢機制によることを示唆する一資料であると考えられる。

又5秒間の延滞時間があり乍ら、中流以上の刺激強度になると CS 終了前に挙肢反射が起るので、この際の内省報告を被験者に求めると「理性的には ES はまだ来ないと分っていても無意識的に挙肢してしまう」といつている。このような意識的判断と反射生起との間の喰い違いも条件反射の一特徴であり、古武¹⁷⁾の条件反射は脱意識過程において形成されるということと共通するものではなからうかと推定される。

脈波と GSR との相互関係は脈波の全般的収縮の時は GSR にも自発性の動揺が多く見られ、一過性の収縮の時には GSR にも変化が現われるというように、よい対応関係が見られるが、随意反応には脈波反応だけが現われて GSR は現われず、又著者等⁴⁶⁾が別に発表したように

CS に用いる音刺激に対する適応は脈波の方が困難で相当長い間反応が現われ続ける等の相違が見出される。脈波は定位（指南）反射であるといわれるが²⁵⁾著者は自分の実験成績から定位反射としての性質の他に GSR と同様に情動反射でもあらうと考える。いずれにもせよ、脈波は GSR より遙かに鋭敏な末梢表出であり、又その変化の様相は全般的な収縮と一過性の収縮との二面を持っているので、中枢過程の追求には優れた1つの標示器であると考えている。

最後に第18図に示したように、視察上の印象では均しく α 波のように見える脳波でもそのスペクトル密度を算出すれば第19図に示すように、覚醒時でも意識状態の変化に応じて α 波の周波数が変わっていることは今後の追求を俟つ所の興味深い現象であると考えられる。

V. 結 語

条件反射をあまり知らない健康成人6名を被験者とし、約5秒間持続する音刺激をCSとし先行言語指示法による延滞運動随意反応と弱、中及び強流のESをUCSとする延滞性回避挙動運動条件反射とを、次の実験方法による多様式記録を以て、比較追求した。

実験方法は随意反応と同じ音刺激をCSとし、足趾に踏む銅板と足背に貼布した銀板とを両極にして3種の強度のESをUCSとして運動条件反射を形成した。記録法は脳波を左運動領の頭皮上から単極導出法により、筋電図及び心電図を同系統の記録計に右下肢のM. recutus femorisと左足首とより、脈波をphototransistorを用い、GSRを手掌と手首とよりおよびMechanogramを呼吸計用ゴム管を用いてそれぞれ導出して記録した。

上述の方法により追求した結果、次の如き総合的成績を得た。

1. 随意反応は言語指示によって直ちに形成し、潜時はCS終了時から平均0.250秒で、心搏間隔は実験前と変わらず、GSRは実験初期に僅かに現われた程度で間もなく消失したが脈波は一過性の収縮を続け、脳波は挙動運動時に α

波の抑制となって現われた。

2. 条件反射はUCSとして用いたESの刺激強度差によって反射の様相が変化したが、各強度における特徴を列挙すると次のようであった。

1) 弱流刺激時にはテストにおいて挙肢反射が形成されない時と形成される時とがあり、形成された場合でもCS終了に僅かに先行する場合もあるが多くはCS終了後に現われ、その潜時は一般に随意反応よりも短かく0.120-0.231秒であった。挙肢反射の生じた時は必ず、生じない時でも、脈波、GSR及び脳波の条件形成は現われた。GSRは強化の初期にはCS開始とCS終了時(UCS付与時)との2回に反射が現われたが強化進行に伴い後者のみの反射となった。

2) 中流刺激時には挙肢反射は殆んどの場合CS終了に先行するようになり、強化開始と共に脈波の全般的収縮とGSRの動揺の頻発とが見られたが、強化の進行に伴い脈波の再拡張とGSRの安定化が現われた。

3) 強流刺激時には実験開始の言語指示のみで脈波の顕著な全般的収縮とGSRの自発性動揺の頻発とが現われ、少数回の強化によりCS開始後間もなく長い持続時間をもつ激しい挙肢反射が現われた。脈波は強化中全般的収縮が続き、GSRは強化進行に伴って安定化するが弱流刺激時のようなCS終了時の反射はみとめられず、CS開始時の顕著なものだけとなった。脳波は挙肢反射の生ずる前に若干の変化が認められたが挙肢運動中は殆んど変化なく、長く且つ顕著な α 波の抑制はCS終了後に現われた。

4) 被験者が実験終了を認識するとその脈波は再拡張しGSRは平坦化するが、この時再実験を宣言すると脈波の顕著な再収縮とGSRの自発性動揺の頻発が現われた。脳波はこの宣言により顕著な乱れを示すがやや安定した時の脳波のスペクトル密度を求めると α 波の周期が若干速波化しているのが認められた。

5) 強流刺激による運動条件反射の形成後

これを消去してから随意反応の実験を行なってみると、初めて随意反応の実験を行なった時は現われなかった脈波の全般的収縮及び GSR の頻発が認められ、条件反射の影響が及んでいるのが認められた。

3. 上述の UCS の強度の増大に伴う条件反射の全般的特徴を概括すると

1) 挙肢反射が次第に早く起るようになり挙肢運動の持続時間も長くなった。

2) 脈波の全般的収縮と GSR の自発的動揺とが顕著になりその持続時間が長くなった。

3) 脈波における CS 終了後の α 波の抑制が顕著且つ長くなった等の傾向が認められた。

稿を終るに当り、長年の間終始変らぬ御厚情を以て御懇切な御指導と御鞭撻とを賜った東京歯科大学・生理学教室主任・伊藤秀三郎教授並びに衆議院歯科医長・大久保信一博士に深甚な感謝を捧げると共に、本実験に協力して下さいった東京学芸大学・斎藤義夫助教授、並びに本実験に献身的に協力して下さいった被験者の諸氏に深い謝意を表する。

文 献

- 1) Alekseev, M. A. (1955) Trud. Inst. Vys. Nerv. Deyat. Tom. 1, 219-234
- 2) Bekhterev, V. M. (1932) General principle of human reflexology. New York, International.
- 3) 張 自来 (1958) 歯科学報 58, 付録 1-25
- 4) Doehring, D. G. (1954) The conditioning of muscle action potential responses resulting from passive hand movement. Dissertation abstr. 14, 2132-2133
- 5) Fink, J. B. (1951) J. Exp. Psychol. 42, 402-408
- 6) 福岡 明 (1958) 阪大医誌 10, 875-890
- 7) 藤原喜悦 (1960) 日本生理誌 22, 836
- 8) 林 麟 (1950) 条件反射応用論 評論社
- 9) 林 麟 (1951) 条件反射 岩波書店
- 10) Hilgard, E. R., 他 (1940) Conditioning and Learning. New York. Appleton-Century Co. Inc.
- 11) Hudgins, C. V. (1933) J. Exp. Psychol. 8, 3-53
- 12) Hunter, W. S. (1937) J. Exp. Psychol. 21, 611-624
- 13) Hunt, J. Mcv. (editor) (1944) Personality and the behavior disorders. Vol. 1. Roland press.
- 14) Ivanov-Smolenski, A. G. (1949) Phiziol. Zhyr. SSSR. 35
- 15) Ivanov-Smolenski, A. G. (1951) Zhur vysshei new. deyat. 1
- 16) 岩間吉也・他 (1952) 脳神経領域 5, 390
- 17) 古武弥正 (1950) 脳研究 第 6 冊
- 18) 古武弥正・他 (1956) 条件反応 共立出版社
- 19) Kobayashi, T. (1953) On the Multihormonic Analysis. J. Met. Soc. Jap. 31, 16-35
- 20) Konorski, J. (1948) Conditioned reflexes and neuron organization. Cambridge univ. press.
- 21) Konorski, J. & Szejewskowska, G. (1952) Acta. Biol. Exp. 20, 91-94
- 22) 小谷虎次郎 (1958) 歯科学報 58, 付録 1-22
- 23) Kislyakov, V. A. (1952) Zh. Vyssh. Nervn. Deyatel.
- 24) Liddell, H. S., James, W. T., & Anderson, O. D. (1934) Comp. Psychol. Monogr., Vol. 11, No. 51
- 25) Luria, A. R. (ed.) (1956, 1958) Problemy vysshei nervnoi deyatelnosti normalinovo i anomalinovo rebyonka. I. II. A. P. N., Moskva.
- 26) 松野 豊 ; (近く日本生理誌に掲載の予定)
- 27) Mokhova, T. M. (1950) Zh. Vyssh. Nervn. Deyatel. 6, 319-328
- 28) Mkrtycheva, L. J. (1955) Trud. Inst. Vys. Nerv. Deyat. Tom. 1, 202-208
- 29) Motokawa, K. & Hujimori, B. (1949) The Tohoku. Exp. Med. 50, 215-223, 225-234
- 30) 本川弘一 (1947) 脳波 南条書店 東京
- 31) 岡村一夫 (1958) 歯科学報 58, 付録 1-14
- 32) Pavlov, I. P. (1942) 林 麟訳 条件反射 三省堂
- 33) Popov, N. F. (1956) Zh. Vyssh. Nerv. Deyat. 6, 718-725
- 34) Samsonova, V. G. (1955) Trud. Inst. Vys. Nerv. Deyat. Tom. 1, 169-181
- 35) Samsonova, V. G. (1955) Trud. Inst. Vys. Nerv. Deyat. Tom. 1, 182-191
- 36) Samsonova, V. G. (1955) Trud. Inst. Vys. Nerv. Deyat. Tom. 1, 192-206
- 37) 須田 勇 (1942) 条件反射 第 4 輯 381-388
- 38) 須田 勇 (1942) 条件反射 第 4 輯 389-394
- 39) Tsuge, H., 他 (1955, 1956) Sci. rep. Tohoku univ. 21, 227-240, 22, 21-28, 115-136
- 40) 時実利彦・他 (1954) 筋電図の臨床 協同出版社
- 41) 時実利彦・他 (1957) 日本生理誌 19, 704
- 42) Traugott, N. N. (1957) Anarushein yakh uzaimo-deistua signalnykh sistem, A. H. USSR.
- 43) 吉井直三郎 (1949) [] 脳研究 第 2 冊 54-70, [] 脳研究 第 4 冊 19-40
- 44) Yoshii, N. & Oga, Y. (1953) Med. J. Osaka univ. IV 1, 75-90
- 45) 吉井直三郎・他 (1957) 日本生理誌 19, 706
- 46) 斎藤義夫・永田清次 ; (近く歯科学報に掲載の予定)

Summary

Characteristics of voluntary reaction and delayed conditioned motor reflex were studied comparatively by polygram of EMG, ECG, EEG, GSR, plethysmogram and mechanogram of movement, in the 6 healthy adults human subjects. Voluntary reaction was made by previous verbal instruction method and motor reflex was formed by conditioned stimulus (CS-sound stimulus which had 5 seconds' duration) and unconditioned stimulus (UCS) which was given at the end of CS.

1. Voluntary reaction was made instantly by verbal instruction and its polygram had not special features except the fact as follows. 1) depression of α wave in EEG was seen only when he lifted leg, 2) shaking of GSR was observed at the beginning of experiment only.

2. In conditioned motor reflex, according to the increase of strength of ES (UCS) many features as follows were seen. 1) In light ES, even when the motor reflex was not formed, conditioned galvanic-skin reflex or plethysmo-reflex were formed. Sometimes, motor reflex was formed and its latency was usually shorter than that of voluntary reaction. 2) In medium ES, motor reflex was formed in almost cases and it occurred usually before the end of CS. In the early stage of reinforcement, general contraction of plethysmographic amplitude and frequent shaking in GSR were observed, but these features were extinguished gradually in accordance with the accumulation of reinforcement. 3) In heavy ES, the formation of reflex was completed by a few trials of reinforcement, it occurred soon after the beginning of CS and its duration was longer than that of light or medium ES. In plethysmogram, general contraction continued throughout experiment, but in GSR, spontaneous shaking was disappeared and stabilization grew accompanying the progress of reinforcement. In EEG, long and remarkable depression of α wave was observed from the end of CS.

3. When subject recognized the close of experiment, amplitude of his plethysmogram extended, but when he was declared to begin experiment again, its contraction and spontaneous shaking of GSR appeared. When compared the power spectra of EEG both in relax state and in strain one, the central peak of α wave of the latter changed to a little faster zone.

In short, general characteristics in motor reflex according to the increase of intensity of UCS were, 1) motor reflex to lift leg happened to occur by degrees soon after the beginning of CS, and duration of movement became longer, 2) general contraction in plethysmogram and spontaneous shaking of GSR became remarkable and their duration became longer, and 3) depression of α wave in EEG after the end of EEG became marked and longer.

(Department of Physiology, Tokyo Dental College)

比較生理学的に見たクルマエビ横紋筋のミオシンAの

特殊性について 612.744.14:595.384

Some special properties of the myosin A extracted from
the striated muscle of lobster

井 口 豊 (IGUCHI-Yutaka)*

I. 序 論

Engelhardt¹⁾²⁾, Szent-Györgyi³⁾ らによって開拓されたアクトミオシン・ATP系の研究は、すでに龐大な知見を貯えた。現在では筋収縮におけるいわゆる mechano-chemical coupling の場はこのアクトミオシン・ATP系であるという学説は広く一般に容認されつつある。

しかしながら、この種の学説の根底となった実験的諸成績は、ほとんど大部分、ウサギなどの哺乳類の骨格筋から得られたものであった。もちろん、他の下等動物の筋組織を用いた研究も行なわれてきた。しかしこれらの研究の大部分は、アクトミオシン系に酷似した構造蛋白を筋などから抽出し、この蛋白系と ATP との単純な物理化学的反応性を追究するにとどまった。

この結果、アクトミオシンと ATP の共軛現象がほとんど同一反応系が、下等動物にも存在するという普遍的な法則性が多くの研究者によって期待されているにもかかわらず、実際上は、ウサギ等における研究にくらべて、下等動物における研究は、いちじるしく初歩的な段階にとどまっていると言えよう。

他方、比較生化学的、あるいは比較生理学的研究が、若干の研究者によって提出されてきている。こうした傾向のうちに、いわゆるアクトミオシン蛋白に、「種」による多かれ少なかれの差異が発見される場合のあることが注目されはじめています。たとえば Maruyama⁴⁾⁵⁾ によって、イソギンチャクの筋蛋白の ATPase は、

Apyrase作用をもつこと、しかしザリガニ⁶⁾ではウサギと同じく、筋蛋白は狭義の ATPase であることが示された。又 Weber⁷⁾, Engelhardt⁸⁾ は単細胞動物からオジギ草にいたるまで、いわゆる“動く生組織”の ATPase 能を広く追究しつつある。すなわち、これらの研究は、この種のアクトミオシンが哺乳動物のそれとかなり本質的に異なる点がありうることを示唆した。

またとくに注目すべきこととしては、下等動物のいわゆるアクトミオシンにおいては、アクチンとの結合にかなりの問題が存在しているものと見做されていることである。

したがって、無脊椎動物の収縮蛋白をそのままアクトミオシンと呼ぶべきではなく、少なくとも現段階においては、粗ミオシンという意味で屢々用いられるミオシンBという表現を用いた方が、より適切であると考えられる。

このような問題が存在するにもかかわらず、技術的な困難もあって、下等動物の収縮蛋白から、より純度の高い（アクチンを欠く）ミオシンAを用いての研究は、十分には行なわれていない。

著者が、エビ類を用いたミオシンAの研究を行なった理由の1つはここにあった。

II. 実験方法

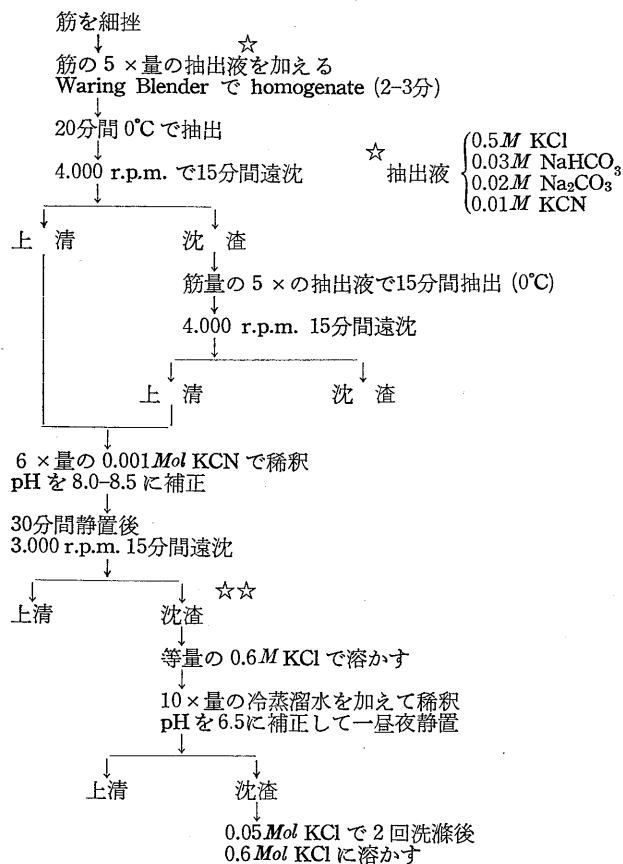
実験動物は生きたクルマエビを使用した。対照としてはザリガニとウサギを使用した。

1. ミオシンA, ミオシンB, 及びグリセリン筋の作製法

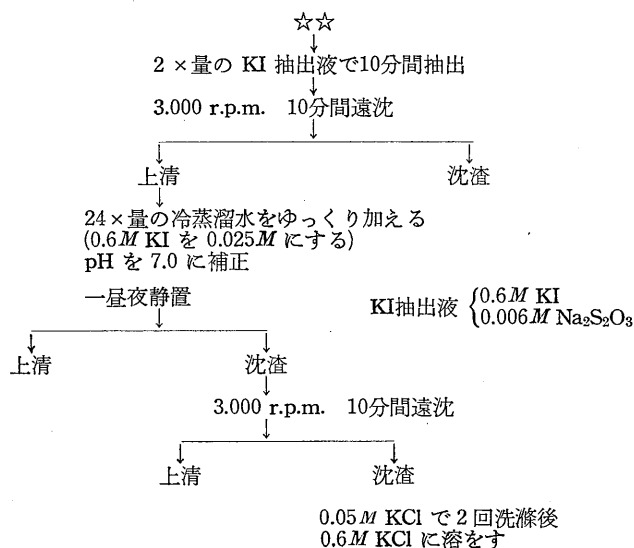
実験動物は生きたまま断頭する。ウサギは頸動脈を切断し、浮血死させる。クルマエビ及びザリガニでは尾部及び腹部の横紋筋、ウサギで

* 慶応義塾大学医学部生理学教室
昭和35年7月25日受付

別表 1. 顆粒性 ATPase を除去したミオシンBの製法



別表 2. 顆粒性 ATPase を除去したミオシンAの製法



は骨格筋を素速くとり出し、以下の方法により抽出する。

ミオシンBの抽出には Szent-Györgyi 法³⁾を用い、Weber-Edsall 液で抽出、沈澱精製を 2-3 回反復したものを使用した。ミオシンAの抽出は Szent-Györgyi の KI 抽出法⁹⁾に従った。

顆粒性 ATPase を除去するには、Kielley & Meyerhof に従って、KCN で抽出を行ない、顆粒を含む上清を除き、その沈渣より Weber-Edsall 液でミオシンBを抽出した。さらにミオシンAを得るには、顆粒性 ATPase を除いた沈渣より KI による抽出を行ない、アクチンを含まないミオシンを得た (別表参照)。

グリセリン筋は Szent-Györgyi¹¹⁾ の方法に従ってクルマエビ尾筋及び腹筋より作製した。15-20°C deep freezer に保存し、使用に臨んで、0°C の氷室中で 160mM KCl に 30分間ひたして洗い、グリセリンを除いた。この抽出筋は直径 0.1-0.2mm, 10-15mm の長さにして、0-500 mg の荷重下に等張性に収縮を描記した。使用グリセロール筋は抽出時間 72 時間から 2 週間に亘るものを使用した。

2. 酵素学的実験

ATP, ADP, AMP をそれぞれ基質として、上記の抽出蛋白の酵素作用を検討した。緩衝液は pH 7.0 の M/15 グリシン緩衝液、また時に応じて M/20 ヒスチジン緩衝液を使用した。反応混合液の KCl 濃度は 600mM である。反応温度は 30°C で、反

応は10%過塩素酸を反応液と同量加えることにより終結させる。除蛋白後上清を使用して無機磷及びイノシン酸の生成量を測定した。使用ミオシンの濃度は、マイクロ・キールダール窒素定量法で蛋白窒素として定量している。

発生した無機磷の量は Allen の方法¹²⁾で定量した。アデニン核のイノシン核への移動（脱アミノ反応）は、Beckmann の分光光度計を用い、紫外外部吸光曲線より推定した。

3. 粘度の測定

ミオシンBの粘度の測定は Ostwald の粘度計を使用して 20°C の恒温槽中で行なった。

4. 使用した ATP は Sigma Chemical Company の Adenosine-5'-triphosphate, disodium salt · 3H₂O Crystalline で、ADP は同じく Sigma Chemical Company の Adenosine-5'-diphosphate, sodium salt である。AMP は Sigma Chemical Company の Adenosine-5'-phosphoric acid, Crystalline を用いた。

脚註：

ATP： アデノシン三リン酸

ADP： アデノシン二リン酸

AMP： アデニール酸

EDTA： エチレンジアミノテトラアセチックアシッド

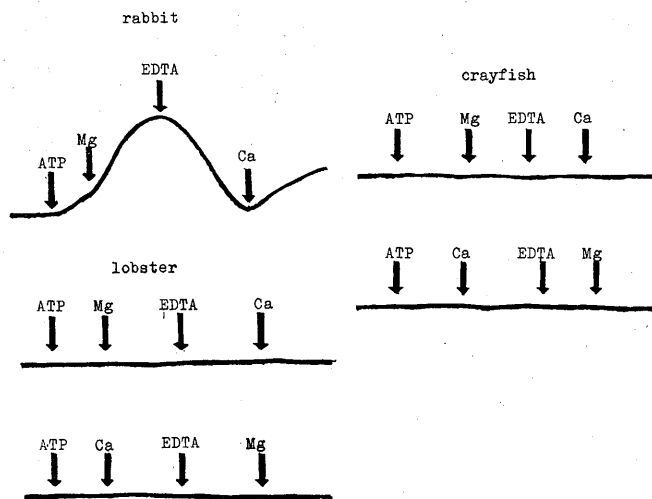


Fig. 1.

The mechanical effect by adding ATP on the glycerinated muscle fibers of rabbits, crayfish and lobster. Additions are shown by arrows: 2.5 mM ATP, 2.5 mM MgCl₂, 2.5 mM CaCl₂, 2.5 mM EDTA.

Ⅲ. 実験成績

ウサギ、ザリガニ及びクルマエビのグリセロール筋に対する ATP の力学効果の比較

哺乳類骨格筋のグリセロール処理筋の ATP 添加による短縮の研究は甚だ多いが、甲殻類についての研究はほとんどみられない。

著者は、哺乳類の骨格筋に存在するようないわゆるアデニレートサイクル¹³⁾¹⁴⁾が一部欠如している——AMP・deaminase が欠けている——甲殻類の筋の力学的效果の検討を試みた。

前記の方法で作製したグリセロール筋を、直径 0.1-0.2mm、長さ 10-20mm にして枝付試験管中にとりつけた。試験管中に 160mM KCl 2ml を入れ、側管より送気して環境液を攪拌しておく。この環境液に ATP, MgCl₂ その他を加えて収縮の生起を観察したのである。

図 1 に示すように、対照に使用したウサギの腰筋のグリセロール筋では明らかに型のような収縮と弛緩とが認められた。

にもかかわらず、クルマエビ及びザリガニでは ATP—Mg の添加によっても何等収縮を認めなかった。また EDTA 及び CaCl₂ を添加しても同様何ら力学的效果を認めなかった。

環境の ATP 及び MgCl₂ の濃度は 2.5 mM より 5 mM を使用しているが、どの濃度においても同様である。

著者はこのような甲殻類の筋では、抽出の際、哺乳動物とは異って、重金属イオンが混入するのではないかと考え、1.0 mM EDTA を含んだ 50% グリセリンで抽出を行なってみたが、結果は全く同様であった。又 160mM KCl 中で洗う際に、20mM チスチンを含んだ KCl 溶液中で 30 分間洗滌を試みたが、全く収縮をみることは出来なかった。

2. ザリガニ及びクルマエビ

のミオシンBに対する Needham 効果 (ATP による一過性粘度低下現象) の比較

クルマエビ及びザリガニのミオシンBを用いて、ATP による Needham 効果 (一過性粘度低下現象) を観察した。

Table 1.

The effect of ATP on viscosity change of the myosin B extracted from lobster.

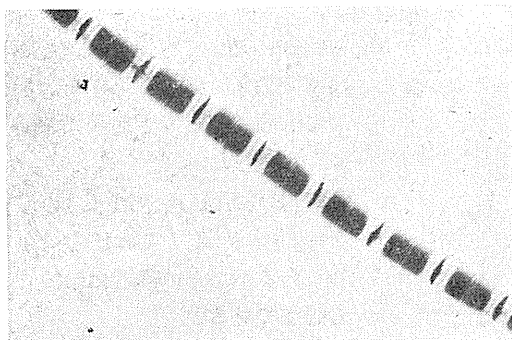
Exp. No.	Exp. condition	η_{sp} initial	η_{sp} after the addition of ATP (0 分)	η_{sp} in the recovery
1		1.8	1.3	1.4 after 60 min
2		1.7	1.3	1.4 after 60 min
3		2.4	1.3	1.4 after 34 min
4		2.6	2.5	2.7 after 38 min
5	Ca added	2.0	1.1	1.3 after 34 min
6	Ca added	2.0	1.6	1.7 after 36 min
7	Mg added	2.2	1.1	1.2 after 34 min
8	Mg added	2.3	1.8	1.5 after 8 min
9	EDTA added	2.0	1.7	1.6 after 36 min
10	EDTA added	1.4	1.0	1.3 after 8 min

ザリガニでは、Maruyama⁶⁾の成績と同じく、ウサギの骨格筋のミオシンBの場合と同じように、ATP の添加によって著明な粘度の低下及び恢復が認められるにもかかわらず、クルマエビでは、ほとんど粘度の変化も認められなかった。0.0125%のATP添加により η_{sp} の50%程度の低下は認められても、表1に見られるように、その恢復はほとんど認めがたかった。

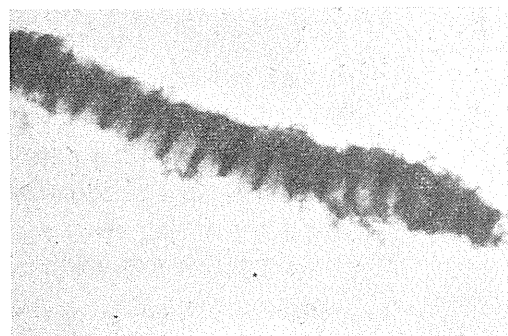
このように、グリセロール筋のATP短縮及びNeedham効果をほとんど欠くクルマエビにおいても、ミオシンBの超沈澱現象はよく観察された。

以上の成績を要約すると考察の部分に示した表8のようになる。すなわち、ウサギの場合、超沈澱、Needham効果、及びグリセロール筋の夫々の実験で、ATPが衆知のような陽性効果を示すが、ザリガニでは、超沈澱とNeedham効果だけが陽性効果をもつ。クルマエビでは僅

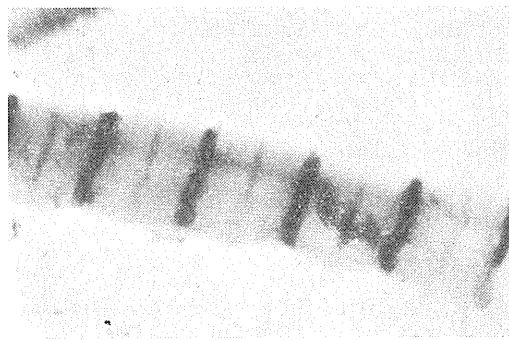
Electron microscopic studies on myofibril from glycerinated muscle fiber.



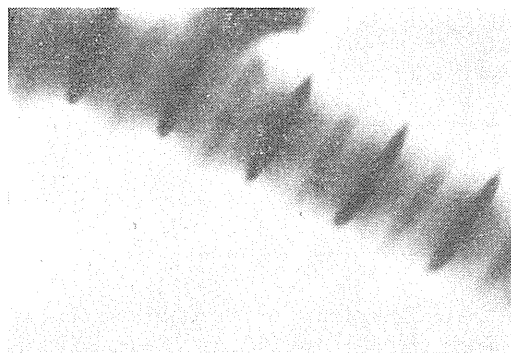
A. Myofibril from rabbit psoas muscle.



B. Myofibril from rabbit psoas muscle treated with 1.25 mM ATP.



C. Myofibril from lobster muscle.



D. Myofibril from lobster muscle treated with 1.25 mM ATP.

かに超沈澱でのみ ATP の陽性効果が発見される。このことは、クルマエビのいわゆる筋収縮機構がウサギのそれと異なるのみでなく、ザリガニの収縮機構とすら異なる面をもつ可能性を示している。

3. クルマエビ筋原線維の ATP 短縮における Z 膜間距離の観察

上記の、クルマエビ及びウサギの洗ったグリセロール処理筋 1 g につき 50 mM KCl を 40 ml の割合に入れ、Waring-blender で homogenize する。この乳濁液をガーゼ 1 枚で濾過し、濾液を 700 r.p.m, 5 分間遠沈し、50 mM KCl で 2 回洗滌する。その沈渣に 5 mM になるように $MgCl_2$ を入れ、これを 3 本の試験管にとる。1 本は対照とし、他の 2 本の試験管には ATP を各々 5 mM 及び 2.5 mM になるように加える。室温 (18-23°C) で 3-4 分間放置後、10% ホルマリン M/50 硼酸緩衝液を等量加えて固定した。固定後 4-5 倍の蒸留水を加え、3000 r.p.m, 5 分間遠沈して、沈澱を 10 回繰返して洗い、塩類を除去した。この沈渣を電子顕微鏡で検鏡し、筋原線維を撮影してその写真から Z 膜間距離を計測した (写真図参照)。

使用した電子電圧は 50 kV であり、対物電流は 88 mA であった。測定の結果は表 2 に示

した通りであり、クルマエビの Z 膜間距離は $3.32 \mu \pm 0.16 \mu$ であり、ウサギよりは長い。またウサギのグリセロール筋原線維は ATP 添加により 50% 以下に短縮しているにもかかわらず、クルマエビではほとんど短縮を認めなかった。すなわち、ATP に対してクルマエビ筋原線維が短縮を示さないという 1 項の観察を裏書きするものである。

4. クルマエビ・ミオシン B・ATPase に対する Mg^{++} 及び Ca^{++} の影響

上述の成績にもとずき、著者はクルマエビのミオシン系の解析の重要性に注目し、まずミオシン B 系について実験を行なった。

すなわち、前記の方法で抽出したクルマエビのミオシン B の ATPase 活性を測定し、ザリガニのそれと比較を試みた。まず 0°C で $MgCl_2$ 及び $CaCl_2$ を夫々の標本に加え、さらに ATP を加えたのち 37°C に保温し、 Mg^{++} および Ca^{++} の ATPase に対する影響を検討した。結果は表 3 に示した通りである。

夫々の実験系列で、 Mg^{++} 及び Ca^{++} の附加していない対照試験管の無機燐発生値を 100 とし、他の実験値をパーセント値で表現した。反応液は、ATP 2.5 mM, $MgCl_2$ 又は $CaCl_2$ は各々、1.0 mM 及び 2.5 mM を使用している。ミ

オシン蛋白はマイクロキールダール法で測定し、蛋白窒素は 0.5-0.9 mg/ml である。反応液の KCl 濃度は 600 mM である。反応は 30°C 恒温槽中で 15 分乃至 30 分間進行させた。

表に見られるように、ザリガニと明らかに異って、クルマエビは Mg^{++} によっても Ca^{++} によっても ATPase が促進された。この現象がミオシン B 中の混入物によるのではないかと考え、600 mM KCl ミオシン液を 10,000 r.p.m で 10 分間遠沈して、全く透明な上清を得、これについて同様の実験を試みたが、結果は

Table 2.

Electron-microscopic observation on the contraction produced by adding ATP to the glycerinated muscle fibers of rabbit and lobster.

	nos. of exam	distance between Z. membrans	ATP 1.25 mM		ATP 2.5 mM	
			nos. of exam	distance between Z. membrans	nos. of exam.	distance between Z. membrans
rabbit	172	$2.60 \pm 0.24 \mu$	191	$1.28 \pm 0.16 \mu$	139	$1.04 \pm 0.11 \mu$
lobster	112	$3.32 \pm 0.16 \mu$	85	$3.12 \pm 0.24 \mu$	68	$3.48 \pm 0.18 \mu$

Table 3.

Effects of Mg and Ca on the ATPase activity of myosin B.

experimental animal	No.	without Ca & Mg	Mg added		Ca added		incubation
			1.0 mM	2.5 mM	1.0 mM	2.5 mM	
lobster	1	100		304		304	30°C 15'
	2	100		140	214	214	30°C 15'
	3	100	333	467		583	30°C 20'
	4	100	125		50		30°C 30'
crayfish	1	100	100		160		30°C 15'
	2	100	18		157		30°C 15'

同様であった。

このクルマエビ・ミオシンBの Mg^{++} による活性化は、あるイオン濃度に限局して起る現象なのではないかと考え、 Mg の濃度を様々にして同様の実験を試みた。結果は表4に示したが、 $30^{\circ}C$ 30分のみの反応では、 $0.05-10 mM$ の濃度では、いずれの濃度でも活性化を示した。とくに $1 mM$ から $10 mM$ までは活性化がいちじるしかった。

この Mg^{++} 活性化作用に対しては、共存する Ca^{++} はこの活性を抑制に転じさせる。表5はこの関係を示すもので、 $1 mM Mg^{++}$ に各々 $0.1, 0.5, 1.0 mM Ca^{++}$ の存在する場合の無機磷発生である。 Ca^{++} の存在は Mg^{++} による ATPase 活性を抑制している。 Ca^{++} により活性化される他の動物のミオシン・ATPase の作用は、 Mg^{++} が共存する場合には常に抑制に転じるが、この場合は Mg^{++} の活性化作用を Ca^{++} が逆転させている。この逆転が Ca^{++} の添加によって二価イオンの濃度が増加したための作用でない

ことは、図2の示す結果から明らかである。

5. クルマエビの KI 抽出ミオシンA・ATPase に対する Ca^{++} 及び Mg^{++} の影響

以上、クルマエビ・ミオシンB・ATPase について得られた成績にもとづき、当然のことながら、ミオシンAを用いて実験する必要が生まれた。ミオシンAは前述の KI 抽出法により、アクチンを含まないものを得た。またミオシンAは、 $100 mM KCl$ 環境下での ATP 添加で超沈澱を起さないことを確かめてから使用した。結果は下に示す通りで、 Mg^{++} による活性化はますます明瞭となり、 Ca^{++} による活性化は低下してきている。また時に Ca^{++} による抑制効果も現われて来ている。反応液は $30^{\circ}C$ で15分間または30分間 incubate した。ATP 濃度は $2.5 mM$ である。反応液の pH はグリシン緩衝液で pH 7.0 にしてある。

ミオシンAを使用して、 Mg^{++} 及び Ca^{++} のその ATPase 能への影響を調べた。反応条件は表6と同じであるが反応時間は30分である。

Table 4.

The ATPase activity of lobster myosin A in various pH.

concentration of Mg (mM)	0	0.05	0.1	0.5	1.0	2.0	5.0	10.0
liberated inorganic phosphate (mM)	0.60	1.12	1.20	1.50	1.81	1.72	1.72	1.62

Table 5.

The inhibitory effect of Ca^{++} on the activation of ATPase by the addition of Mg^{++} .

No.	without Ca and Mg	with Mg 1.0 mM	with Ca 1.0 mM	with Mg 1.0 mM		
				Ca 0.1 mM	Ca 0.5 mM	Ca 1.0 mM
1	1.60	2.00	0.78	2.30	1.00	1.10
2	0.59	0.62	0.50	0.50	0.50	0.50
3	0.15	0.53	0.53			0.17

Table 6.

The effect of Ca^{++} and Mg^{++} on the lobster myosin A ATPase extracted by the KI solution from lobster muscle.

No.	without Ca and Mg	with Mg (1.0 mM)	with Ca (1.0 mM)	incubation	
1	100	340		$30^{\circ}C$	15'
2	100	950	210	$30^{\circ}C$	15'
3	100	880	100	$30^{\circ}C$	15'
4	100	353	166	$30^{\circ}C$	15'
5	100	125	48	$30^{\circ}C$	30'
6	100	450	172	$30^{\circ}C$	30'
7	100	273	39	$30^{\circ}C$	30'

Mg^{++} のミオシンAに対する活性化作用は、 $2.5 mM$ において最大である。 Ca^{++} のそれは $0.1 mM$ から $1.0 mM$ において見られる。

6. 顆粒性 ATPase を除いたクルマエビ・ミオシンB・ATPase に対する Mg^{++} 及び Ca^{++} の影響

前記のミオシンA・ATPase の Mg^{++} による活性化が、顆粒性ATPaseの混入によるものではないか、という疑問を除くために次の実験を行なった。すなわち Kielly & Meyerhof の方法により、顆粒性ATPaseを除く操作を行なって、残部の蛋白よりミオシンB及びAを抽出し、このミオシンについて実験を行なった。最初に、このミオシンBと Szent-Györgyi の方法

により抽出したミオシンBとの Mg^{++} 及び Ca^{++} に対する態度を比較した。

表7に示したように、 Mg^{++} 及び Ca^{++} を含まないミオシンBの無機燐発生量を100%として計算すると、ウサギでは、KCN 抽出で顆粒を除去すると、 Ca^{++} による活性化は残るにもかかわらず、 Mg^{++} による活性化は明らかに弱まり、ウサギのミオシンBの Mg^{++} による活性化

は、顆粒性ATPaseの混入が大きい役割を果たしていることを物語っている。これに反してクルマエビの場合には、顆粒を除く操作を行なったミオシンBも、その考慮なしに Szent-Györgyi 法で抽出したミオシンBも、ATPase 能には何ら量的質的な差異は認められなかった。また Mg^{++} 及び Ca^{++} の共存は Mg^{++} の ATPase 活性化を妨げる。また顆粒性ATPaseを除去した

残部蛋白よりさらに KI 法で抽出したミオシンAの Mg^{++} 及び Ca^{++} に対する態度をしらべた。結果は 0.1 mM Mg^{++} の存在による活性化はますます盛んになり、対照の無機燐発生は 0.30 mM であるのに対し、 Mg^{++} 存在下では 2.21 mM を示した。

また 1.0 mM Ca^{++} の存在は却って燐発生を抑制し、 0.13 mM の発生にとどまった。すなわちクルマエビ・ミオシンBの Mg^{++} 活性化作用は顆粒性ATPaseによるものではない。次にミオシンAについて、同じような検討を行なった。

7. 顆粒性 ATPase を除いたクルマエビ・ミオシンAについて

前記の Mg^{++} 活性化がクルマエビ・ミオシン・ATPaseの属性である事が明らかになったので、その他の性質を知る為に、顆粒性ATPaseを除いた筋蛋白よりミオシンAを抽出してその性質を検討した。

a) ATP分解能に対する Mg^{++} または Ca^{++} の影響

ミオシンA・ATPaseの Mg^{++} 及び Ca^{++} に対する態度が、ウサギ、ザリガニ等のそれとは明らかに異なるので、これが従来知られているATPよりADPを作るミオシンA・ATPaseであるかどうかを知るために、時間的に燐発生を追究した。結果は図3に示す通りで、 2.5 mM のATPの存在において 4.7 mM の無

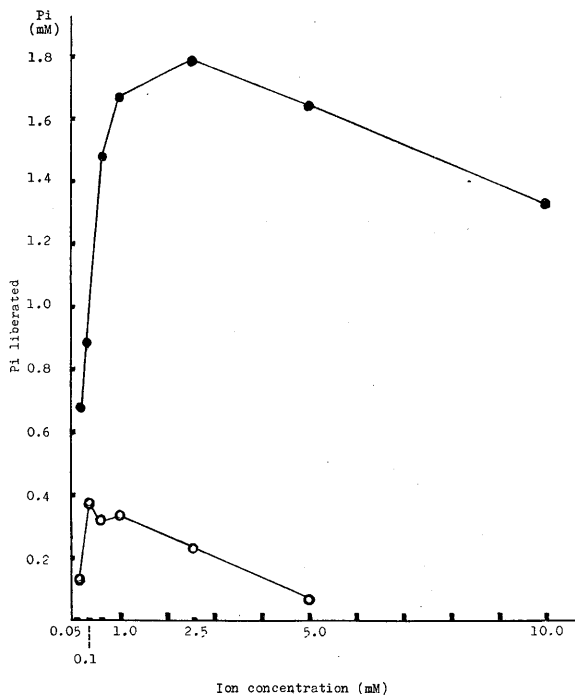


Fig. 2.

The effect of different concentrations of calcium or magnesium on the ATPase activity of lobster myosin A. Activity was measured in $M/15$ glycine buffer (pH 7.0), 600 mM KCl, 2.5 mM ATP and ions as indicated: $MgCl_2$ and $CaCl_2$. Reaction mixture was incubated at 30°C for 30 minutes.

Table 7.

Effect of Mg^{++} and Ca^{++} on myosin B・ATPase and granular ATPase free myosin B・ATPase of rabbit and lobster.

		Pi (mM) %			
		without Mg & Ca	with Mg	with Ca	with Mg+Ca
rabbit	myosin B	100%	202	190	74
	granular ATPase	100%	81	137	25
	free myosin B	100%	167	220	87
lobster	myosin B	100%	156	214	90
	granular ATPase	100%	156	214	90

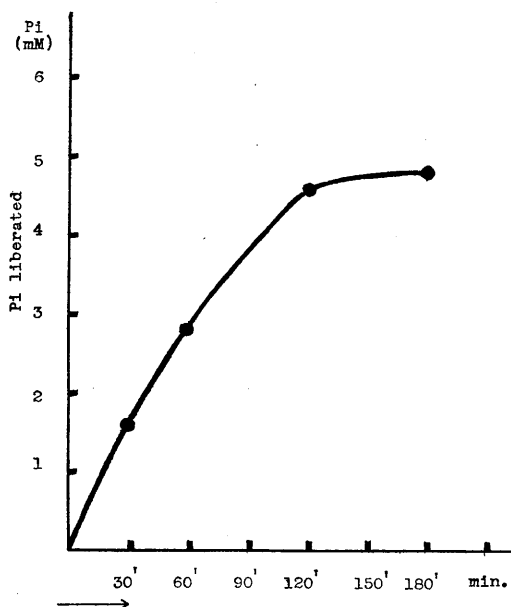


Fig. 3.

Time-activity curve of myosin A-ATPase extracted from lobster. Activity was measured in *M*/15 glycine buffer (pH 7.0), 600 *mM* KCl, 1.0 *mM* MgCl₂, 2.5 *mM* ATP, 0.47 mg protein-N, at 30°C.

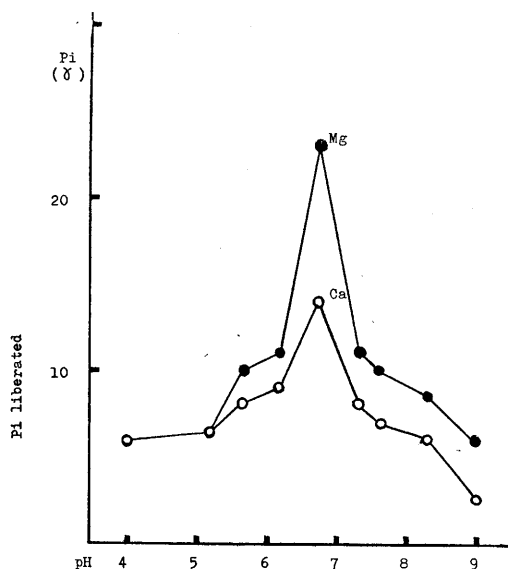


Fig. 4.

pH-activity curve of lobster myosin A-ATPase. Activity was measured in *M*/20 histidine buffer of various pH, 600 *mM* KCl, 2.5 *mM* ATP, 1.0 *mM* MgCl₂, 1.0 *mM* CaCl₂, 0.37 mg protein-N. Reaction mixture was incubated at 30°C for 30 minutes.

機磷の発生をみている。実験条件の詳細は図の下に記してある。

b) ADP に対する作用

このミオシンAでは、ADPを基質にした場合、Mg⁺⁺の存在下においても無機磷の発生が非常に少なく、すなわち、ADPの脱磷酸酵素能（直接的なものにせよ、adenylate-kinaseを介するものにせよ）が、ATPaseをapyraseと誤解させる程に、十分には存在しないことは明らかである。

c) AMP に対する作用

またAMPを基質にした場合、その吸光度曲線は、30°C 15分のincubationにおいて、反応の前後を比較してみたが全く変化が認められず、したがって、AMP-deaminaseは活性が余りないか、あるいはきわめてわずかなものにすぎないとみとめられる。

以上の実験により、このミオシンA分層は、myokinase, AMP-deaminaseをもたず、そのATP分解形式はapyrase様作用によるものとみとめられる。

d) ATP 分解能の至適 pH

次にこのapyrase様ATPaseの至適pHを求めた。図4はMg⁺⁺またはCa⁺⁺の存在下に、600 *mM* KClの条件で求めたミオシンA・ATPaseのpH曲線である。縦軸は発生無機磷量(γ)，横軸はpHである。緩衝液はpH4より9までの*M*/20ヒスチジン緩衝液を使用している。incubationは30°C, 30分である。

図4に示したように、pH曲線はMg⁺⁺添加の場合も、Ca添加の場合も同様にpH6.8にかなり鋭い山を示し、ザリガニ⁶⁾や哺乳類¹⁵⁾のミオシンAの場合のように2つの山を示す、ということとはなかった。したがって、以上の事実は、クルマエビのミオシンAは、Mg⁺⁺により活性化され、7附近に1つの至適pHの山を有するapyrase様のATPaseであることを示している。

IV. 考 察

この20年間、多くの研究者によって、「自ら

動く」という生物現象の解析が進んだ結果、ATP 分解酵素の生理学的意義が広範な分野で強調された。

すなわち、高等動物の骨格筋から発して、平滑筋¹⁶⁾、粘菌¹⁷⁾、精子¹⁸⁾などの各種の動きうる動物組織はもちろん、各種の下等動物の運動器官、原形質流動を示す植物細胞⁷⁾、さらにおじぎ草の運動器官⁸⁾にいたるまで、動きうる生物質中から、強いATPase能をもつ蛋白が抽出された。一方、ウサギの骨格筋を中心として、大きな知見が蓄積され、主としてその知見にもとづき、いわゆる mechano-chemical coupling の理論が詳細に論じられた。この結果、ウサギの骨格筋から得られた所謂アクトミオシン・ATP 反応の諸性質を、他の運動器官に、とくに他の筋組織に、やや無批判的にあてはめようとする一種の傾向が潜在していると言えよう。

たとえば、衆知のように、ウサギの骨格筋から得られるミオシン A・ATPase は、600 mM KCl 環境下では、Mg イオンによって抑制され、Ca イオンによって活性化される。

すでに Maruyama⁶⁾ が報告し、この報告で著者も確認したように、ザリガニのアクトミオシン系も、ほとんどウサギに近い反応を示す。

しかしながら、著者がクルマエビを用いて行なった実験によって、この動物の横紋筋に、ウサギ及びザリガニとは著しく異なったミオシン系が存在することが明らかにされた。

A. クルマエビの筋原線維の特徴

従来まで、節足動物の筋のグリセロール処理筋原線維の ATP 短縮に関しては、僅かに Sarkar¹⁹⁾ の一報告のみが見出される。Sarkar によれば、カプトガニから得たグリセロール筋原線維は ATP によって、ゆるやかな僅かな短縮を示すという。

著者は、クルマエビの腹部及び尾部から得た生筋を用い、常法に従ってグリセロール筋原線維を作り、ATP の効果を観察したが、ATP 収縮を認め得なかった。つづいて、抽出条件を様々に変え、あるいは、短縮実験のイオン環境をいろいろと変更し、ATP の効果を検討した

Table 8.

experimental animal	rabbit	crayfish	lobster
superprecipitation	+	+	+
Needham effect	+	+	—
contraction of glycerinated fibers	+	—	—
property of ATPase	myosin型	myosin型	apyrase型

が、ほとんど収縮は描画出来なかった。

次にクルマエビのグリセロール筋をホモジェナイザーで細分し、ATP の効果を電子顕微鏡で観察した。しかしながら筋原線維の Z 膜間距離は、ATP 添加によっても統計的に有意の短縮を示さなかった。同じ方法でウサギのそれを観察すると、約50%に近い短縮が見られることと対比すると、クルマエビの反応性が少くとも非常に微弱なものにすぎないことを示している。

B. クルマエビのミオシンBにおける Needham 効果及び超沈澱

上述のように、クルマエビからとり出した筋原線維は、ATP 短縮を示さなかった。ここで、著者はこのミオシンBにおける Needham 効果及び超沈澱の検討を行なった。すでに表1に示したように、クルマエビから抽出したミオシンBの粘度は、ATP の添加で低下するが、殆んど恢復を示さない。これらの成績もまたウサギのそれといちじるしく異なることが注目された。

しかしながら、クルマエビのミオシンB溶液は、適当な条件で、ATP を添加されることにより、明らかな超沈澱を示す。したがって、後述するように、広い意味でのATPase能をもつこと、及び超沈澱を示すことの2点において、ウサギのミオシンBとクルマエビのミオシンBとが同一の性質をもつという事実は、注目に値する。表8はこれらのクルマエビの成績を、ウサギ、ザリガニから得られた知見と比較したものである。この表8で注目されることは、同じ亜目に属する。ザリガニとクルマエビの Needham 効果に差があるという事実である。すなわち、ザリガニに見られる Needham 効果は、クルマエビでは殆んど観察できない。

著者はこの現象を、はじめは、何か附随的な因子の差異によるものと予想した。しかし両者のATPaseの性質の差異を追究していく過程において、両者のミオシンAにかなりの本質的な差異があることを見出す結果となった。

C. クルマエビのミオシンA及びBのATPaseの特徴

ザリガニのミオシンBのATP分解能は、KCl 600 mM 環境下で、Caイオンによって活性化され、Mgイオンによって抑制される。しかしながら、クルマエビのミオシンBのATP分解能は、同じ条件で、Mgイオンによって活性化され、この活性化はCaイオンによって拮抗される。

この様なクルマエビのミオシンBの特徴は、かなり奇異な現象で、より十分な解析を必要とすることは当然である。

そこで著者はSzent-GyörgyiのKI抽出法によって抽出したミオシンA（アクチンを含まない）を用いて、そのATP分解能を検討した。しかし、この成績もまた、クルマエビのミオシンAは、Mgイオンによって活性化され、その活性化がCaイオンによって拮抗されることを示した。

この他、この奇異なミオシンの性質の由来として、顆粒性ATPaseの介在が否定し得なかったので、ミオシンB及びAを抽出する以前にKielley & Meyerhofの方法にもとづき、顆粒性ATPaseを抽出する手段を採用した。

すなわち、顆粒性ATPaseをクルマエビ及びウサギのミオシンから抽出した残渣を用いて、再びミオシンBを抽出した。この結果、ウサギでは予期した成績が得られたのに反して、クルマエビではMgイオンの活性化作用は事実上、まったく減弱しなかった。

次に同じように顆粒性ATPaseを抽出する操作を行なったあとの残渣から、再びミオシンAを抽出し、これについてMgイオンの影響を検討した。この結果、このようなミオシンA標本においても、ATPase能に対するMgイオンの活性化作用は依然として変化しなかった。

上述の顆粒性ATPaseを抽出したあとのミオシンAに含まれるATPaseの至適pHは、pH7附近に1つの山をつくり、ザリガニやウサギ等のミオシンAのように酸側とアルカリ側に2つの至適pHをもつことがない。この事からも、クルマエビのミオシンATPaseは、ザリガニやウサギと異なり、下等動物の筋にみられるaprase型のものであると予想される。

さらにまた、クルマエビのミオシンAは、ATPを基質として、ほぼ2倍のmol数の無機磷を発生する。この事実は、クルマエビのミオシンAのATPaseがaprase型のものであることを示している。

一方、Maruyama⁴⁵⁾はイソギンチャクの収縮蛋白は、aprase様性質をもつミオシン様蛋白であると述べている。

aprase様の収縮蛋白は、イソギンチャクの他に、粘菌¹⁷⁾、精虫の尾¹⁸⁾、ヒトデ、ウニ²⁰⁾²¹⁾等にもみられるもので、高等動物の横紋筋にみられるミオシンBまたはAとは異なる収縮蛋白の原始型ともいふべきものである。

このような原始型が、無脊椎動物のうちでもかなり発達した筋をもっていると思われる甲殻類のクルマエビに発見されたということは、比較生理学上、重要な意味をもつものと考えられる。

V. 総 括

1) クルマエビ・グリセロール処理筋に対するATPの力学的効果を検討した。このグリセロール筋はATP・Mg⁺⁺添加により収縮を全く認めえなかった。電子顕微鏡による統計的観察によっても、ATPの収縮効果は肯定されなかった。

2) クルマエビ筋より抽出したミオシンによるATP分解では、Mgイオンの活性化作用がいちじるしい。このATPaseはATPより2つの無機磷を放出させるaprase様作用をもつ。

クルマエビのミオシンB、ミオシンA、及び顆粒性ATPaseを除いたミオシンB及びAにおいても、ATPase作用はMgイオンによって活

性化された。

Ca イオンによる活性化もみられるが、Mg イオンに比して弱い。とくに顆粒性ATPaseを除く操作をうけたミオシンAではCaによる活性化が非常に弱い。

3) 顆粒性ATPaseを除去したクルマエビのミオシンAのATPaseは、pH7附近に1つの至適pHの山をもつ。

4) クルマエビのミオシンA及びBは、ウサギまたはザリガニのミオシンAおよびBと異なり、むしろイソギンチャク、ウニ等に見られる収縮蛋白の原始型に属するものである。

欄筆に当り、御懇篤なる御指導ならびに御校閲にあずかった林猷教授、岡本歌子講師に衷心より感謝の意を表すると共に、本研究の初期に御示唆をいただいた岡本彰祐教授（神戸医大）に深甚の謝意を表す。電子顕微鏡写真の撮影にあたっては、本塾電子顕微鏡研究室串田弘技理学士より御親切な技術的御協力をいただいたことを記して感謝の意を表す。

尚、本研究の費用の一部はワックスマン財団の奨学金によるものであることを附記する。

文 献

- 1) Engelhardt, V. A. & M. N. Ljubimova (1959) *Nature*, **144**, 668

- 2) Engelhardt, V. A. (1946) *Advances in Enzymology*, **6**, 147
- 3) Szent-Györgyi, A. (1947) *Chemistry of Muscular Contraction*, New York.
- 4) Maruyama, K. (1958) *Emzymologia*, **19**, 22
- 5) Maruyama, K. (1958) *ibid*, **19**, 28
- 6) Maruyama, K. (1958) *Biological Bulletin*, **114**, 95
- 7) Weber, H. (1958) *The Motility of Muscle and Cells*. Cambridge.
- 8) Engelhardt, V. A. (1957) *Conference of the Chemistry of Muscular Contraction*. 134, Tokyo.
- 9) Szent-Györgyi, A. (1951) *J. Biol. Chem.* **192**, 361
- 10) Kielley, W. W. & O. Meyerhof (1948) *J. Biol. Chem.* **176**, 591
- 11) Szent-Györgyi, A. (1949) *Biol. Bull.* **96**, 140
- 12) Allen, R. I. L. (1940) *Biol. J.* **34**, 858
- 13) Engelhardt, V. A. (1952) *Special lecture, 2 nd Internat. Congr. Biochemistry*, Paris.
- 14) Okamoto, S. et al. (1957) *Conference on the Chemistry of Muscular Contraction*. Tokyo.
- 15) Engelhardt, V. A. & M. V. Ljubimova (1942) *Biochimija*, **7**, 205
- 16) Csapo, A. (1949) *Acta. Physiol. Scand.* **19**, 100
- 17) Loewy, A. G. (1952) *J. Cell. Comp. Physiol.* **40**, 127
- 18) Nelson, L. (1954) *Biochim. Biophys. Acta*, **14**, 312
- 19) Sarkar, K. (1950) *Emzymologia*, **14**, 288
- 20) Maruyama, K. (1956) *Jap. J. Zool.* **12**, 11
- 21) Maruyama, K. (1956) *ibid*, **12**, 19

Summary

Results obtained from the lobster muscle indicated that the ATP splitting in myosin A and B was obviously activated by adding Mg ion to the reaction mixture, and that the ATPase in the myosin A and B acted as a apyrase releasing 2 mol of inorganic phosphate from 1 mol of ATP.

The same results were also demonstrated in the myosin A fraction, from which the granular ATPase was removed by the extraction. The pH optimum of the enzyme solution was neary at 7.0. Special attension was paid by the author to the evidence that ATPase in the myosin of lobster was clearly differ from the myosin of crayfish and rather similar to the ATPase found in see-anemone or see-urchin.

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

学童に於ける自然条件反射の実験的研究 612.833-053.5

An experimental study of natural conditioned salivary secretion
in primary school boys and girls

荒 冷 政 雄 (ARAREI-Masao) *

I. 緒 論

自然条件反射は平素の生活の間に信号 (Signal) としての条件と、無条件反射 (Unconditioned reflex) とが結合せられることによって、自然の生活の中に、自ずと形成せられたものであって、この研究は、ソヴェトに於ても、犬に於ける自然条件反射が条件反射発見の動因でありながら、人工条件反射の蔭に隠れている状態で研究の例数は非常に少いものである¹⁾。

近時、栖原⁹⁾、早川²⁾、林⁵⁾⁷⁾⁸⁾¹¹⁾、古武⁶⁾に見るくらいで、その成果も非常に少いものである。

1942年早川は、日本人に適応したサクシオンカップの作成に成功し、これを頬粘膜の耳下腺唾液輸出口に吸引法により貼布せしめ、分泌唾液量をマノメーターに誘導せしめ、このマノメーターの移動値を mm で標示したのである¹¹⁾。

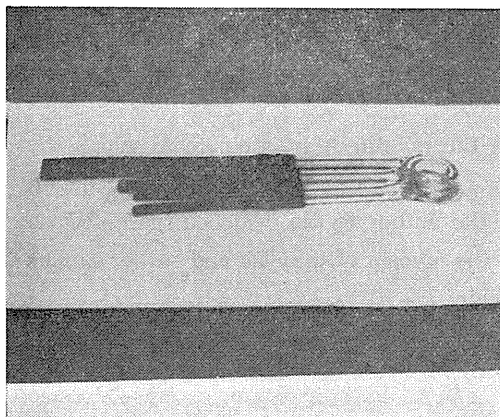
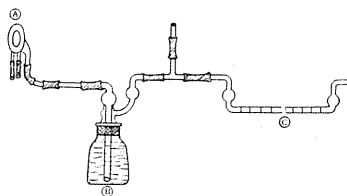


Fig. 1.

Sketch of the Apparatus for Salivary Measurement



A = Suction cup. B = Salivary bottle. C = Liquid manometer

Fig. 2.

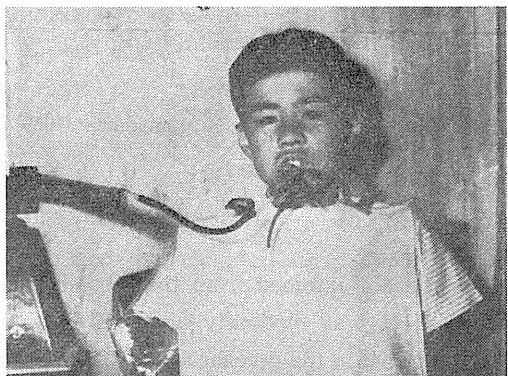


Fig. 3.

II. 実 験 方 法

1. 林・栖原式唾液分泌量の測定

林・栖原等による唾液分泌量の測定方法は、第1図の如き唾管を耳下腺開口部に陰圧貼布し第2図に示した理論で分泌量をマノメーターに誘導せしめ、その移動値を mm で標示する方法である。第3図は、これを貼布した際の被験者の状態を示している。

このマノメーターの移動値を mm で標示したのである。

* 慶応義塾大学医学部生理学教室
〔昭和35年8月30日受付〕

著者も人唾管を用いて学童に於ける自然条件反射の研究を実験生理学的立場から研究せんと試みたが、実験を試みるにあたりいくつかの困難が生じて来たのである。即ち

a) 学童は成人を対象とした人唾管にては、その貼付が時として不可能な場合が多い。

b) 学童に於ける集団実験は云うまでもなく不可能である。

以上の点以外に、日本人幼児者に於ける条件反射の研究報告が全くと云って良い程現在までなされていない点から、林・栖原、その他が試みた広汎な唾液を標示とした研究を学童に於いて実験しようとした際に、本法を改良工夫する必要にせまられた。著者は種々と研究を試みた結果、著者独自の唾液分泌量の検討方法を発見し、林・栖原、その他が行なった研究を、特に学童を対象として然かも多量集团的に検討することに成功した。

2. 著者独自の考案した唾液分泌量の測定法人唾管を貼布せずに分泌唾液の量を観察するための方法として、分泌唾液を吸収せしめるような物質を用いてはどうかと考え、種々試みた結果、局方脱脂綿 (Gossyium absorbens) が最も適していると云う結論に至った。

そこでこの日本薬局方脱脂綿 400 mg のものを三等分にし、左右の口腔内頬粘膜歯肉境界部と、他の1つを舌下皺襞部に置き、単位時間経過後、これ等の綿花を被験者の口腔内よりとり出し天秤にて計量し綿花重量を引いて分泌唾液重量を知る方法である。

そこでこの日本薬局方脱脂綿 400 mg のものを三等分にし、左右の口腔内頬粘膜歯肉境界部と、他の1つを舌下皺襞部に置き、単位時間経過後、これ等の綿花を被験者の口腔内よりとり出し天秤にて計量し綿花重量を引いて分泌唾液重量を知る方法である。

3. 唾管による成績と綿花法による成績との比較

操作の上に於ては、唾液分泌測定装置に対して計量した綿花があれば出来る点非常に便利で

Table 1.

固有唾液量 (1950. 9. 8-10. 11)

男 (9才)	被験者固有唾液量 (g)	KIHU	HIKO	KAOK	SUYU	TAMI	KAKI
		3.01	2.51	2.47	2.47	2.43	2.42
女 (9才)	被験者固有唾液量 (g)	TOIS	HIOG	YOYO	MITU	YUKO	HAAS
		3.84	3.08	2.91	2.60	2.57	2.25
男 (9才)	被験者固有唾液量 (g)	HUMI	NOTA	ARTA	ITSU	計	平均
		2.00	1.76	1.76	1.34	22.23	2.223
女 (9才)	被験者固有唾液量 (g)	SAYO	TUKO	HUNA	TUNA	計	平均
		2.06	1.75	1.61	1.46	24.13	2.413

(3分間)

Table 2.

学童の固有唾液量類別 (1953. 9. 2-10. 23)

類別 \ 年齢別	5才	6	7	9	11	計	測定全員との割合
測定人員	男(2)	男 1	男5 } 10 女5 }	男50 } 100 女50 }	男7 } 16 女9 }	男65 } 129 女64 }	
小量群 10mm以下				28	1	29	22.5%
中量群 10-50 mm	2	1	10	68	13	94	72.8%
大量群 50mm以上				4	2	6	4.6%

ある。然かも口腔内の容積の大小はとくに影響しない点はおえて利点にもなる。しかしマノメーターの観察と異なり吸水量の算出値より知るものであり、400 mg の綿花の吸水力を考えると実験成績からも、又著者の実験の経験から考えても、3分間を最大単位とするのが最も適し、此れ以上の観察の際は、口腔内に入れた綿花は、第二の綿花に置き換える方法が最も良いと云うことが解った。

勿論著者が試みた綿花法は、その成績を唾管による一側の耳下腺唾液量の成績と比較検討しても何等変らない成績を得た。勿論その際に於ける本法では、耳下腺唾液と顎下、舌下腺唾液の口腔内唾液腺より分泌せられたる唾液そのものの量であって、一唾液腺からの分泌量とは異なる点を留意する必要がある。

以上これ等の点を考慮しながら被験者としては、小学校3年の学童を用い、知能的、身体的に各階層から等分に出した男子10名、女子10名計20名を用い、長期に互る連続的実験を行なった。

類別 被験者	チョコレート			梅 干			林 檎			
	反 射 唾 液 位	嗜 好 度	摂 取 度	反 射 唾 液 位	嗜 好 度	摂 取 度	反 射 唾 液 位	嗜 好 度	摂 取 度	
♂	KIHU	1	B	D	2	C	D	3	A	B
	HIKO	2	C	B	1	B	B	1	A	B
	KAOK	3	C	B	4	A	D	2	B	B
	SUYU	4	C	B	5	A	A	6	B	A
	TAMI	5	B	B	6	C	D	7	B	B
	KAKI	6	C	D	3	B	D	4	A	B
	HUMI	7	A	B	7	B	D	5	C	A
	NOTA	8	A	C	9	C	A	9	B	B
	AKTA	9	A	B	8	C	D	8	B	A
	ITSU	10	C	C	10	B	B	10	A	A
♀	TOIS	1	B	B	2	C	D	3	A	B
	YIOG	2	B	B	1	C	B	1	A	B
	YOYO	3	B	B	3	C	D	2	A	B
	NITU	4	C	B	6	A	A	6	B	A
	YUKO	5	B	B	9	A	A	5	C	B
	SAYO	6	C	B	8	B	B	8	A	B
	HUAS	7	C	B	5	B	A	7	A	B
	TUKO	8	C	D	10	B	B	9	A	B
	HUNA	9	B	A	4	C	D	4	A	A
	TUNA	10	A	B	7	B	A	10	C	B
備 考	被験者の答申によるもので、詳細な区分は出来なかつた。									
	嗜好度の区分記号は A 大変好き。 B 普通。 C あまり好きでない。 D はほとんど毎日のように食べていない。二度食べる。									
考	摂取度の区分記号 B ときどき食べる。 C はほとんど食べない。 D									

も及んだ。小量群 (10 mm以下) の者は全体の22.5%をしめ、中量群 (10-50mm) の者は72.8%となり、更に大量群 (50 mm以上) に至っては4.6%で、その全体から見ると、5-11才までの小児に於いては、中量群が非常に多く、次いで、小、大量群となるに従って非常に小人数になることが判明したのであるが、成人となって小量群、大量群が増加して行くのは如何なる意味を有するかは、大、中、小量群の個人差が如何なる意味を有するかと共に、全く新しい問題として、今後の研究に待たれるものである。

3. 学童の知能指数並びに身体発育程度其の他との関係

そこで著者は次の実験として学童の固有唾液量および反射唾液量と、知能指数、身体発育程度、嗅覚鋭敏度、及び味覚鋭敏度との比較を試みることにした。

かくして試みた成績を総括したものが第3表である。

この成績より明らかな如く、学童に於ける唾液分泌と其の他の関係に就いて何等平行性を認めなかったことである。即ち固有唾液大なる者かならずしも反射唾液大とは云えない。然らば知能指数との関係はこれも明らかに何等関係がないことが解る。

4. 嗜好度並びに摂取度との関係

著者の第4の研究は、然らば学童の嗜好物と分泌量との関係に就いてで、その嗜好度は被験者の答申によったもので著者は学童を対象としている点からして、次の3種を選定した。即ちチョコレート、梅干、林檎がそれである。そこで此の3物質により男子並びに女子学童に就いて試みた成績は、第4表に一括表示したが、一定量を投与した際の反射唾液分泌量を被験者全

Table 5.

チョコレートを刺激とした自然条件反射唾液量表

		1950.9.8.~1950.10.11.					(単位はg)
被験者	刺激類別	固有唾液	机上 (視覚)	手上 (視覚)	鼻下 (嗅覚)	唇触 (唇触覚)	無条件反射 唾 液
KIHU	♂	3.01	3.22	3.38	3.76	3.46	4.22
HIKO	♂	2.57	2.82	2.92	2.86	3.36	5.82
KAO	♂	2.47	3.06	3.14	3.28	3.38	4.02
SUYU	♂	2.47	2.80	2.78	2.46	2.72	3.64
TAMI	♂	2.43	2.92	3.06	3.02	2.90	3.76
KAKI	♂	2.42	2.32	2.86	2.68	3.32	3.18
HUMI	♂	2.00	2.40	2.42	2.42	3.04	3.12
NOTA	♂	1.76	1.70	1.94	2.62	2.56	4.02
ARTA	♂	1.76	1.86	1.98	2.14	2.24	3.38
ITSU	♂	1.34	1.20	1.24	1.34	1.22	2.10
TOIS	♀	3.84	3.60	3.38	3.88	3.70	4.72
YIOG	♀	3.08	3.14	2.98	3.38	3.34	4.84
YOYO	♀	2.91	2.78	3.10	2.80	3.54	3.48
MITU	♀	2.60	3.02	3.22	3.06	3.28	4.56
YUKO	♀	2.57	2.18	2.74	3.22	2.78	4.04
SAYO	♀	2.06	2.56	2.76	2.38	2.54	4.16
HUAS	♀	2.25	2.22	2.54	2.36	2.96	3.94
TUKO	♀	1.75	2.48	2.24	2.52	2.54	2.84
HUNA	♀	1.61	1.74	1.94	1.88	2.16	2.58
TUNA	♀	1.46	1.32	1.80	2.00	2.54	3.10
合 計		46.36	49.34	52.44	54.00	57.61	75.52
平 均		2.318	2.467	2.622	2.700	2.881	3.776
陽性形成数			12人	17人	18人	18人	
陰性形成数			8人	3人	2人	2人	

体より見てその量の点から順位を附した。

これによるとあまり好きでない型に分泌量が比較的増量が考えられる傾向にあり、逆に非常に好きであるにもかかわらず唾液分泌量の順位は低下している者もいた成績である。しかし著者の此等の成績中、分泌量順位なるものは、反射唾液量10例中の最も最高分泌量を示した者を順位1としたのであって、各個人に於ける固有唾液又は反射唾液分泌量の数値ではない。尚性的に何等区別すべきものは認められない。

IV. 学童に於ける自然条件反射

用いた物質はチョコレート、梅干、林檎を選び、刺激として次の4種の方法を採った。

a) 刺激物質を机上に置いて見せる場合

b) そのものを皿に入れて被験者の手の上に載せて見せる場合

c) 被験者を閉眼の状態で鼻の下に刺激物を近づけ嗅覚に知覚せしめる場合

d) 同様にして口唇に刺激物を触れた際の触覚に知覚せしめる場合

尙その際に於ける唾液分泌量の測定は、著者考案の綿花法によった。従って唾液分泌量は単位時間（3分）に於ける分泌重量g値である。

実験に際し被験者は学童を用いたが、実験系列は、各人各系列毎に日を変えて5回観察をし平均値を出した。

1. チョコレートを刺激とした時の自然条件反射の実験

被験者個々の結果を見ると、自然条件反射形成の見られないものもあり、又或る実験時には

Table 6.

梅干を刺激とした自然条件反射唾液量表

1950.10.16~1950.10.30

刺激類別 被験者	固有 唾液	机上 (視覚)	鼻下 (嗅覚)	無条件 反射 唾液
KIHU ♂	3.01	3.80	4.86	6.50
HIKO ♀	2.57	4.90	6.14	9.66
KAOK ♀	2.47	3.22	3.96	7.52
SUYU ♀	2.47	2.68	2.48	7.81
TAMI ♀	2.49	3.12	3.98	6.72
KAKI ♀	2.42	2.70	3.14	10.16
HUMI ♀	2.00	2.96	3.66	4.86
NOTA ♀	1.76	2.22	2.94	5.66
ARTA ♀	1.76	2.50	2.64	5.66
ITSU ♀	1.94	1.44	1.06	3.68
TOIS ♀	3.84	4.16	5.54	9.80
YIOG ♀	3.08	4.20	5.90	14.86
YOYO ♀	2.91	3.96	3.84	9.04
MITU ♀	2.60	1.98	3.06	6.46
YUKO ♀	2.57	2.16	2.68	4.86
SAYO ♀	2.06	1.76	2.44	6.96
HUAS ♀	2.25	2.12	3.14	6.44
TUKO ♀	1.75	2.04	3.02	4.02
HUNA ♀	1.61	2.50	3.26	7.58
TUNA ♀	1.46	1.50	3.52	7.46
合計	46.36	54.72	71.26	145.89
平均	2.918	2.756	3.569	7.295
陽性形成数		16人	19人	
陰性形成数		4人	1人	

形成が見られるが、他の実験時には見られないと云うものもある。しかし常に形成されていると云うものが多数を占めていた。この整理したものが第5表である。

a) 著者の実験した20名の9才児については、小数児を除けば、一般に固有唾液量より自然条件刺激による分泌唾液量が多く、チョコレートが自然条件反射を大多数児に形成している事が判るが、勿論個人により強弱の差はある。

b) 同一の刺激物質であるチョコレートでも、第5表の刺激類別の如く、刺激条件を変えると、自然条件反射の唾液分泌量に、空間的序列に併行した差がある。即ち、視覚、嗅覚、触覚等の自然条件刺激による自然条件反射唾液量は、机上、手上、鼻下、口唇の位置的遠近順序に比例し、無条件刺激の与えられる部分に近いもの程分泌量が多い。

c) 無条件刺激による反射唾液量は、自然条件刺激の何れの条件の場合よりも分泌量は、はるかに多量である。

2. 梅干を条件刺激とした時の自然条件反射の実験

この実験は、机上に条件刺激を置いた場合と、鼻下に置いた場合を採った。その実験結果は第6表の如くで次の如く云い得る。

a) 少数の例外はあるが、ほとんど何れの条件でも、固有唾液量よりも多く、自然条件反射の形成されていることを認める。

b) 本実験の自然条件反射唾液量の順位は、机上、鼻下の順に増加し、位置的遠近序列に併行していると見られる。

c) 無条件刺激の場合反射唾液量は、自然条件反射の何れよりもはるかに多量であった。

d) 梅干の自然条件反射唾液量は、チョコレートの場合と比較すると、何れの条件刺激でも分泌量が多い。しかし刺激類別に於ける分泌量の順位は、本実験の刺激類別中では、チョコレートと全く同一順序である。

3. 林檎を刺激とした時の自然条件反射の実験

梅干の場合と同一類別の条件で実験した結果

は第7表の如く、量的な差はあるが、前実験梅干の場合と同一結果が認められた。

小 括

チョコレート、梅干、林檎等の自然条件反射についての実験結果として、次の如き結論が得られる。

1) 此の実験で各刺激による唾液分泌量が、固有唾液より多い場合は、自然条件反射が形成されている証拠であり、固有唾液量と変化のない時は、自然条件反射が形成されていないことである。

本実験に於ける自然条件反射唾液分泌量は統計的平均値に於いては勿論であるが、個々人の反射唾液分泌量に於いても、僅少の例外はあるが、ほとんどが固有唾液量よりも各刺激による唾液分泌量が多く、チョコレート、梅干、林檎については、自然条件反射の形成されている者が絶対多数であることが認められた。

チョコレートにしても、梅干、林檎にしても、生れてからの自然の長い個体の時間的経過の間に、多数の繰返しがなされて条件反射を形成したことが理解出来る。

2) チョコレート、梅干、林檎の各々の刺激類別による自然条件反射唾液量は、何れの食品に於いても、無条件刺激として与えられる部位に近いもの程多量で、位置的に隔るものほど減少し、位置的遠近序列に併行すると云い得る。

3) 本実験の3食品の自然条件反射唾液量は同一条件刺激である場合に、チョコレートより林檎が僅かに多く、林檎より梅干がはるかに多量を示した。これは無条件刺激として強い刺激となり得るもの程多量であることを実証しているのは、林の実験結果と全く同一である。

4) 無条件刺激として舌上に刺激物を載せる場合は、他の何れの自然条件反射の唾液分泌量より常に多量である。これは先天的な無条件反射が、後天的な

Table 7.
林檎を刺激とした自然条件反射唾液量表

1950.11.2~1950.11.13

(単位はg)

刺激類別 被験者	固有 唾液	机上 (視覚)	鼻下 (嗅覚)	無条件 反射 唾液
KIHU ♂	3.01	3.54	3.62	4.40
HIKO ♀	2.57	3.68	4.60	6.38
KAOK ♀	2.47	3.64	3.80	4.52
SUYU ♀	2.47	2.82	2.52	4.26
TAMI ♀	2.43	3.06	3.22	4.40
KAKI ♀	2.42	3.36	3.40	4.80
HUMI ♀	2.00	2.70	3.50	5.00
NOTA ♀	1.76	2.18	2.50	3.94
ARTA ♀	1.76	2.68	2.62	3.56
ITSU ♀	1.34	1.40	1.08	1.80
TOIS ♀	3.84	2.72	2.80	5.24
YIOG ♀	3.08	3.28	4.02	6.04
YOYO ♀	2.91	3.08	3.06	4.38
MITU ♀	2.60	1.80	2.16	3.66
YUKO ♀	2.57	2.38	2.54	3.12
SAYO ♀	2.06	1.54	2.28	3.22
HUAS ♀	2.25	1.94	1.64	3.42
TUKO ♀	1.75	1.92	1.96	2.50
HUNA ♀	1.61	2.52	2.52	3.78
TUNA ♀	1.46	1.24	1.98	4.36
合 計	46.36	53.48	55.62	82.58
平 均	2.518	2.674	2.781	4.129
陽性形成数		14人	14人	
陰性形成数		6人	6人	

Table 8.
晴天と曇雨天時の唾液分泌量比較表
1950.9.8-1950.11.13 (3分間, 単位g)

刺激類別	刺激食品 天 候 別	チョコレート		梅 干		林 檎	
		晴	曇雨天	晴	曇雨天	晴	曇雨天
固 有 唾 液	文 字	2.33	2.63				
	言 葉	2.38	2.31				
	机 上	2.54	2.43	2.71	2.39	2.39	2.72
	手 上	2.47	2.53	2.83	2.54	2.49	2.75
鼻 下	唇	2.71	2.73				
	口 唇	2.74	2.87	3.74	3.14	2.70	3.01
	条 件 反 射	2.86	2.99				
	無 条 件 反 射	3.89	3.76	7.63	7.18	4.12	4.16
外 作 業	誘 導	2.40	2.85	3.02	3.29	2.61	3.01
	優 位 数	2.16	2.17				
		3	7	4	1	0	5

固有唾液、作業は刺激食品には無関係である
唾液量は統計的に算出した1人平均値である

条件反射よりも根強いものであることを意味する。

5) 本実験が晴天, 又は曇雨天により如何に影響されているかを調べて第8表を得たが, 作業に意志を集中していると考えられる場合は, 晴雨の影響が全く見られぬことが注意を引いた。

V. 学童に於ける自然条件反射の外誘導

1. 外誘導

自然条件反射の存在する人に, その刺激食物を他人に食せしめて, それを見させると, その食物を単に見ただけの時よりも, 多量の唾液分泌がある。又自然条件反射を欠く人に対して, 他人が食するのを見させると, 或る食物で

は, 固有唾液量より多量の条件反射唾液分泌を起さしめる。この現象を自然条件反射の外誘導(Induktion)の現象という。

この現象は個体に対する自然の条件に関するものではなく, 個体に対する個体の影響, 又は個体間相互の問題をはじめ客観的に研究し得という手懸りとなる現象である。

2. 学童による外誘導の実験

a) 綿花法による外誘導の測定

自然条件反射と比較する場合の妥当性を考え, 前章で実験した自然条件反射実験の被験者, 男女各10名, 計20名の9才児を用いて, 此の実験を自然条件反射実験計画中に入れて実験したのである。

実験方法は前章で述べた自然条件反射実験と

同様に綿花法によった。計測方法は9才児2人を1メートルの間隔をおいて対座せしめ, 一方の食するのを他方に見させて, その3分間の唾液分泌量を計測した。食せしめた食品は, チョコレート, 梅干, 林檎で各人各条件5回の実験測定を行ない, 各人の平均値を求めた。

更に全体の統計的平均値を求めたものが第9表である。この表の如く, 個々人の平均値は, チョコレート, 林檎, 梅干を他人に食せしめて, それを見せた時は, 1,2 の例外を除いて, 何れも固有唾液量を越える事は勿論, 単に視覚による自然条件反射唾液分泌量より大多数に於いて多量の唾液分泌を見た。即ちチョコレート, 林檎, 梅干を刺激とした場合に外誘導現象の存在するのを確認することが出来た。

更に全体の平均値を無条件反射及び自然条件反射と比較して見ると, 第10表に見る如く, 外

Table 9.
外 誘 導 唾 液 量 表

1950.9.8~1950.11.13

(3分間, 単位はg)

被験者	条件	固有唾液	チョコレート			梅 干			林 檎		
			机上	自然条件反射	外誘導のみ	机上	自然条件反射	外誘導のみ	机上	自然条件反射	外誘導のみ
K I H U		3.01	3.22	3.66	0.44	3.80	3.80	0	3.54	3.50	-0.04
H I K O		2.57	2.82	3.04	0.22	4.50	3.42	0.12	5.68	3.64	-2.04
K A O K		2.47	3.06	3.12	0.06	3.22	3.48	0.26	3.64	4.96	0.72
S U Y U		2.47	2.80	2.60	-0.20	2.68	2.72	0.04	2.82	2.28	-0.54
T A M I		2.43	2.92	2.76	-0.16	3.12	3.72	0.60	3.06	3.04	-0.02
K A K I		2.42	2.52	2.76	0.44	2.70	3.42	0.72	3.56	3.24	-0.12
H U M I		2.00	2.40	2.36	-0.04	2.36	3.26	0.90	2.70	3.76	1.06
N O T A		1.76	1.70	2.14	0.44	2.22	2.46	0.24	2.18	2.26	0.08
A R T A		1.76	1.86	2.20	0.34	2.50	2.24	-0.26	2.68	2.32	-0.36
I T S U		1.34	1.20	1.58	0.18	1.44	1.62	0.18	1.40	1.22	-0.18
T O I S		3.84	3.60	3.60	0	4.16	4.18	0.02	2.72	2.62	-0.10
Y I O G		3.08	3.14	3.58	0.44	4.20	5.14	0.94	3.28	3.56	0.08
Y O Y O		2.91	2.78	3.30	0.52	3.96	5.06	1.10	3.08	3.44	0.36
M I T U		2.60	3.02	3.00	-0.02	1.98	2.48	0.50	1.80	2.14	0.34
Y U K O		2.57	2.18	3.08	0.90	2.16	2.18	0.02	2.38	2.24	-0.14
S A Y O		2.06	2.56	2.70	0.14	1.76	2.52	0.76	1.54	2.42	0.88
H U A S		2.25	2.22	2.06	-0.16	2.12	2.82	0.70	1.94	2.26	0.32
T U K U		1.75	2.48	2.06	-0.42	2.04	2.38	0.34	1.92	1.88	-0.04
H U N A		1.61	1.74	1.88	0.14	2.50	3.22	0.72	2.52	2.78	0.26
T U N A		1.46	1.32	1.96	0.64	1.50	1.74	0.24	1.24	1.14	-0.10
合 計		46.56	49.34	53.24	3.90	54.72	61.86	7.14	53.48	53.90	0.42
平 均		2.318	2.467	2.662	0.195	2.736	3.093	0.357	2.674	2.695	0.021
陽性形成数			12人	19人	15人	16人	20人	18人	14人	15人	9人
陰性形成数			8人	1人	6人	4人	0人	1人	6人	5人	11人
不形成数					1人			1人			

誘導現象に於ける唾液分泌量は、無条件刺激の反射唾液量よりも常に少く、自然条件刺激の序列と比較すると、自然条件刺激食品が、自分の手の上にある場合の視覚刺激に於ける自然条件反射唾液分泌量を稍越える値であった。林檎、梅干に於いては、手上的視覚刺激の条件の場合には実験しなかったが、チョコレートの結果から見ても、林檎の場合の外誘導の平均値の 2.70g が机上の 2.67g と鼻下の 2.78g の間に位置し、梅干に於いても机上の 2.74g と鼻下の 3.56g の間に位置する 3.09g である事からも、著者の実験条件と手続に於ける実験結果からは、外誘導現象の脳を興奮せしめる刺激強度は鼻下に刺激物がある時よりは弱く、食品が自分の手の上に在る場合よりも稍強いと云う結論に到った。しかし人間の外誘導の個人差又は条件差については、後に述べることとする。

b) 林、栖原法による外誘導の測定

11才の学童 3 人を被験者として、サクシヨンカップを貼付し、マノメーターに標示せしめる方法により、チョコレートと、梅干の外誘導の計測をした結果は第11表の通りである。

本実験は 1 名の被験者に対し 1 名がチョコレート、梅干を食べて見せたもので刺激時間は 3 分間で刺激と刺激との間は 3 分間休んで次の刺激を与え系列として継時測定をなしたのであるが、此の 3 名の被験者は明らかに、チョコレートに於いても、梅干に於いても自然条件反射と比較して増量を見、外誘導を確認することが出来た。

3) 実験結果より考察した外誘導現象

前記両方法による実験結果から、外誘導の存在を確認した。而して食物が自然条件反射として視覚に提示された場合よりも、食物を食べる他人を見る外誘導に於いて、多量な分泌量がある事は、単なる食物の視覚条件以上に、更に何等かの因子が附加されていると考えなければならない。これは、大脳皮質間に生起する過程の中の誘導現象と称せられるものと、近似の現象であると考えられるが、今迄の誘導現象の原因は内的のものであったのに比して、これは外的

Table 10.
自然条件反射と外誘導の比較 (平均値)
(3 分間 単位はg)

刺激類別	刺激食品	チョコレート	林 檎	梅 干
固 有 唾 液		2.32	2.32	2.32
自然条件反射	机 上	2.47	2.67	2.74
	手 上	2.62		
外 誘 導 唾 液		2.66	2.70	3.09
自然条件反射	鼻 下	2.70	2.78	3.56
	唇 触	2.88		
無 条 件 刺 激		3.78	4.13	7.30
(1g 食せしむ)				
外 誘 導 の 値		0.19	0.03	0.25
(外誘導一机上)				

Table 11.
チョコレートと梅干の外誘導
1959.7.8 (3 分間単位mm)

刺激類別	被験者	KASI (11才女)	YOMA (11才女)	YATO (11才女)
固 有 唾 液		11	8.5	10
チョコレート				
自然条件反射唾液		13	11	12
チョコレート				
自然条件反射外誘導		18	15	15
梅 干				
自然条件反射唾液		20	13	12
梅 干				
自然条件反射外誘導		28	22.5	19

な原因によるものであるから、外誘導現象と名付けて従来の誘導現象と区別している。

此処で外誘導は、個体に対する自然の条件ではなく、個体に対する個体の問題で感情移入、或いは意欲の存在を客観的数量によって表わし得る根拠となる現象であることが明確となった。

小 括

著者の考案した方法と、従来との 2 方法による実験の結果から、自然条件反射の外誘導現象の存在する事は、林の実験の結果と全く同一である事を実証した。そしてこの外誘導現象は他人の食するのを見ての感情移入や意欲等有意的なものを含むものが、この誘因、即ち、外的因子であることを論証し、更に、自然条件反射、無条件反射、外誘導の関係をも言及した。

VI. 総 括 的 考 察

著者は人間の自然条件反射の形成過程について

て実験し数量的に測定し、その蓋然的法則を求め、それが人間に於いて如何に多くの特徴をもってその順応に役立つかをみようとした。

それには既にバゾロフ及びその門下の犬を用いた人工条件反射の研究があり、更に進んで林及びその門下の人間に於ける条件反射の研究があるので、その2つの大きな支柱のもとに学童を実験材料として学習問題の数量的研究のために自然条件反射の手法を応用し得るかどうかを求めて来たのが本論攻である。

人間の実験に当っては、僅かの外部環境の変化や内部条件の変化が影響するのみならず、心理的な変化が大腦を通じて微妙な影響を与えていることがわかる。動物では動揺が少なく、人工条件反射形成は非常に早く、かつ安定しているに係わらず、人間では動揺が多く、形成も不安定なことが多いが、本研究によれば、それは専ら心理的影響の多い人間の条件反射の特徴をなし、むしろそこに人間らしさがあるといえるであろう。この不安定さは、出来るだけ多数の実験によって、その傾向を求めて行くことが必要であるし、もう1つ、多数の学童を被験者とし、しかも集団の研究に於いては在来のサクシヨンカップによりマノメーターに導いて標示する方法ではとうてい不可能であるから、余は吸収物質として綿花に唾液を吸収せしめ、重量を測定すると云う簡単でしかも多数を一時に計測出来るいわゆる綿花法を考案した。そして学童に於ける固有唾液並びに自然条件反射唾液を検討し更に、自然条件反射外誘導を計測し次の如き結論を得た。

VII. 結 論

1) 学童を対象として、自然条件刺激を、チョコレート、梅干、林檎として、大多数の学童に自然条件反射の形成されていることを実験的に認めることが出来た。

2) 自然条件反射刺激の食品を、机上、手上、鼻下、口唇触と、位置的条件を変えて提示

した場合、無条件反射時の食品の位置に近いもの程、順次多量であると言う、即ち空間的位置の序列に併行した分泌差のあることを認めた。

3) 自然条件刺激として、チョコレート、梅干、林檎を他の人が食するのを見せたところ、大多数の学童に外誘導現象の存在するのを認めた。

斯くして心理学的の領域を生理学上の基礎の上に、しかも数量的標示の可能な客観的な方法によって解明しようとするのが、とも角可能であることを驗したと云えよう。

在来この要望に答える研究方法がなかったのであるが、自然条件反射の外誘導の研究から、有意性を数量的に求め得るという、とも角もう1つの糸口がたぐれるようになった。

慶応義塾大学医学部教授林巖博士、立命館大学文学部内藤耕次郎教授、日本大学歯学部教授栖原六郎博士、高下弘夫博士に心から感謝の意を表します。更に長期の実験にも喜んで被験者となってくれた300余名の学童に心からの感謝をささげ度い。

文 献

- 1) Babkin, B. P. (1928) Die Äussere Sekretion der Verdauungsdrüsen. (Verlag von Julius Springer)
- 2) 林 巖 (1950) 条件反射学応用論 評論社
- 3) 林 巖 (1951) 条件反射 岩波全書
- 4) 林 巖 (代表者) (1956-8) 条件反射による内制止の研究 31年度, 32年度, 33年度, 文部省総合研究報告集録医学及び薬学編
- 5) 笠井寿美雄・青木誠一 (1957) 人工条件反射と自然条件反射の制止の比較. 歯科月報 31, (1号)
- 6) 古武弥正・新浜邦夫 (1956) 条件反応 共立出版社
- 7) 小野 清; 人間に於ける自然条件反射の外誘導に関する研究 (日本生理誌に掲載の予定)
- 8) 栖原六郎 (1956) 人間の耳下腺唾液量に関する研究 歯科月報 30, (4号)
- 9) 栖原六郎・笠井寿美雄・小野 清 (1957) 人間に於ける固有唾液と反射唾液との交互の影響に就いて 歯科月報 31, (2号)
- 10) 高下弘夫 (1959) 大腦と唾液分泌との相関 歯科月報 33, (4号)
- 11) 高下弘夫・藤岡 弘 (1957) 人間の純粋唾液採集法 歯科月報 31, (3号)
- 12) 高木貞二・城戸幡太郎 監修 (1953) 実験心理学提要 第3巻 岩波書店

Summary

The salivary secretion of about 300 subjects of a primary school children (6-11 years old) were tested by the method of measuring the weight of cottons (Gossypium absorbens) of 400 mg each after their keeping in the mouths for 3 minutes.

1) The resting saliva for 3 minutes were determined in average as 2.2 g in boys and 2.4 g in girls.

2) When presenting apples, plums, and chocolate cakes before them, the amounts of saliva were increased than their resting saliva. It means that they all have natural conditioned salivary secretions.

3) When they looked persons who were eating the above named sweets, the saliva secretion of them was further increased than their natural conditioned saliva. This phenomenon was discussed on understanding it as an external induction of the natural conditioned reflex.

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

容 積 導 体 と し て の 胸 廓 (Ⅱ) 612.172.4

誘導軸を平行に移動した場合の R-loop の変化

A study of chest as a volume conductor (Ⅱ)
The changes of R-loop by parallel displacement of the lead axis

勝 野 直 (KATSNO-Tadashi)*

I. 緒 論

ベクトル心電図の誘導法に就いては Shellong (1937), 木村 (1938), Willson & Burch (1938), Duchosal & Sulzer (1938), A. Grishman & others (1951)¹⁾²⁾ 及び Milovanovich & Jouve があり, なお其の他多くの人々によって夫々の誘導法が工夫され改良されて居り, 此等は夫々の特長を持って居り未だ統一された誘導法がない。

今若し胸廓が均一なる容積導体であり, 心臓の電氣的中心が不動の一点であるならば, 此等誘導法間には或いは簡単な関係があるかも知れない。

此の事を知る為にも胸廓の性質は重要な役割を持っているので, 胸廓の全表に於いて誘導軸を種々に変える事によって起きる影響の変化を検討して, しては胸廓の性質を知る目的で本実験を行なった。

Ⅱ. 実 験 方 法

1) 実験法

胸廓表面に於ける誘導軸の位置及び方向には Grishman 誘導法を基として参考した。

Grishman 誘導法に於ける frontal, sagittal 及び horizontal の各面について (但し horizontal の面については Grishman の誘導法とは少し違っている), Fig. 1 及び Table 1 によって一方の軸を固定し, 之れと直角の軸を逐次平行に移動した。平行に移動して生ずる変化を直観的に把握し又理解を容易にする便利のために vector

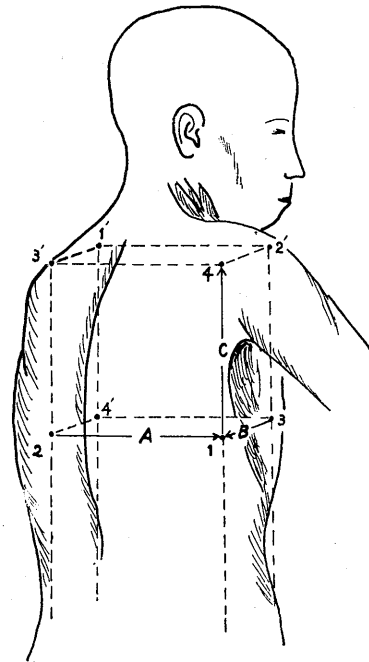


Fig. 1.

Chest is regarded as a hexahedron as the Grishman's leads.

loop の変化として観察した, vector loop は大きく見易い R-loop を利用した。

2) 実験装置

実験に使用した装置は一素子ブラウン管に C-R 結合による増巾器 2 個をもつ刻時式ベクトル心電計である。刻時は 1/500 sec で, 進行方向は太い方が前である³⁾。

Ⅲ. 実 験 成 績

代表例として健康者 2 名 (KT 及び KH) について, F_1 : Fig. 2, F_1' : Fig. 4, F_2 : Fig. 5, S_1 : Fig. 6, S_2 : Fig. 7, H_1 : Fig. 8, H_2 : Fig. 9 で

* 日本医科大学生理学教室
〔昭和35年8月31日受付〕

Table 1.

Vector \ Input		Vertical Axis	Horizontal Axis	
Frontal Vector	F ₁	1-4 (Grishman 誘導 C) を固定	前壁に於いては左右前腋下線上、後壁に於いては左右後腋下線上にて1-2に平行に誘導、その軸の高さは下記の通り。 1. 前面 腸骨上縁 9. 前面 第2肋間 17. 後面 第8胸椎 2. 前面 臍の高さ 10. 前面 9, 11の中間 18. 後面 第10胸椎 3. 前面 2, 4の中間 11. 前面 第1肋間 19. 後面 第1腰椎 4. 前面 第7肋間 12. 肩 峰 (Grishman 誘導 A) 5. 前面 第6肋間 13. 後面 第1胸椎 20. 後面 19, 21の中間 6. 前面 第5肋間 14. 後面 第2胸椎 21. 後面 腸骨上縁 7. 前面 第4肋間 15. 後面 第3胸椎 8. 前面 第3肋間 16. 後面 第6胸椎	
		1-4 (Grishman 誘導 C) を固定	胸廓の前壁に於いて1-2に平行にして下記の線上の2点より誘導 No. 高 さ 右誘導点 左誘導点 I 第1-8 肋間 右中腋下線 左中腋下線 II 第1-8 肋間 右乳嘴線 左乳嘴線 III 第1-8 肋間 右鎖骨中線 左鎖骨中線 IV 第1-8 肋間 右胸骨線 左胸骨線 V 第1-8 肋間 右胸骨線 左乳嘴線 VI 第1-8 肋間 左胸骨線 左腋下線 VII 第1-8 肋間 左鎖骨中線 左前腋下線 VIII 第1-8 肋間 左鎖骨中線 左腋下線 IX 第1-8 肋間 左乳嘴線 左腋下線	
	F ₂	1-4 に平行なる下記線上の2点より誘導	2-1 (Grishman 誘導の A) を固定 1. 右後腋下線 } 右側壁 2. 右腋下線 } 3. 右前腋下線 } 左側壁 4. 右乳嘴線 } 5. 右鎖骨中線 } 前 6. 正中線 } 7. 左鎖骨中線 } 壁 8. 7, 9の中間 } 9. 左乳嘴線 } 10. 左前腋下線 } 11. 左腋下線 } 12. 左後腋下線 } 13. 左肩胛下角線 } 後壁 14. 脊椎線 } 15. 右肩胛下角線 }	
Sagittal	S ₁	1-4 に平行に下記線上の2点より誘導	3-1 (Grishman の誘導 B) を固定 1. 右後腋下線(Grishman 誘導のC) } 右側壁 2. 右腋下線 } 3. 右前腋下線 } 左側壁 4. 右乳嘴線 } 壁 5. 右鎖骨中線 } 前 6. 正中線 } 7. 左鎖骨中線 } 壁 8. 左乳嘴線 } 9. 左前腋下線 } 10. 左腋下線 } 11. 左後腋下線 } 12. 左肩胛下角線 } 後壁 13. 脊椎線 } 14. 右肩胛下角線 }	
		1-4 (Grishman 誘導 C) を固定	両側壁の前、後腋下線上に於いて3-1に平行に誘導、その軸の高さは下記の通り。 1. 腸骨上縁 6. 右第2肋間 12. 左第6肋間 2. 第1腰椎 7. 右第1肋間 13. 左第7肋間 (Grishman B) 8. 左第1肋間 14. 第1腰椎 3. 右第5肋間 9. 左第3肋間 15. 腸骨上縁 4. 右第4肋間 10. 左第4肋間 5. 右第3肋間 11. 左第5肋間	
	H ₁	3-1 (Grishman 誘導 B) を固定	前壁に於いては左右の前腋下線上、後壁に於いては左右の後腋下線に於いて 3-4' (1-2) に平行に誘導、その軸の高さは下記の通り。 1. 腸骨上縁 7. 第4肋間 13. 第4胸椎 2. 1, 3の中間 8. 第3肋間 14. 第5胸椎 3. 第7肋間 9. 第2肋間 15. 第6胸椎 4. 3, 5の中間 10. 第1肋間 16. 第1腰椎 5. 第6肋間 11. 第2胸椎 17. 腸骨上縁 6. 第5肋間 12. 第3胸椎	
Horizontal	H ₂	両側壁の前後腋下線上に於いて3-1に平行に誘導、その軸の高さは下記の通り	3-4' を固定 1. 腸骨上縁 6. 右第2肋間 12. 左第6肋間 2. 第1腰椎 7. 左第1肋間 13. 左第7肋間 (Grishman B) 8. 左第2肋間 14. 左第1腰椎 3. 右第7肋間 9. 左第3肋間 15. 腸骨上縁 4. 右第6肋間 10. 左第4肋間 5. 右第4肋間 11. 左第5肋間	

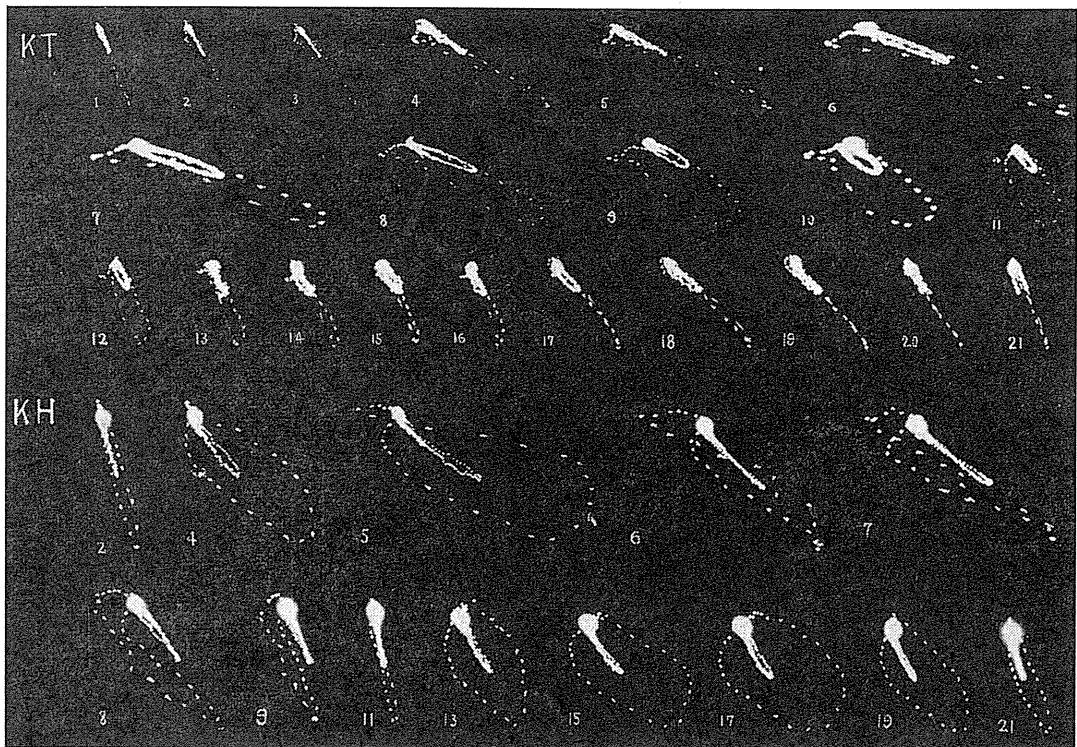


Fig. 2.

F₁. Vertical axis is fixed on the Grishman's lead C. Horizontal axis, as an exploring one, is displaced parallel with the Grishman's lead A.

その成績を示す。

1) F₁ について

縦軸を固定して、横軸を探索軸として腸骨上縁より腹側を上方へ No. 1-11 まで登って背峰に至り、背側を下方に No. 12-21 と降り、第4腰椎の高さに至る (Fig. 2), その間に於ける……

a) R-loop の前半に於ける傾きを見るに、KT については No. 1-3 と次第にその傾きを減じ、No. 4-5 とその度合の減じ方が急になり、No. 6-16 と逆に急に傾きを増し、No. 17-19 と多少乍ら傾きを減じ、No. 20, 21 と傾きを増す傾向を示している。

KH についても多少のずれはあるが同じ傾向を持っている (Fig. 3).

b) R-loop の形を見るに、KT については No. 1-5 は殆んど直線的であるが、No. 6-10 と次第に楕円形の中を増し No. 10 に於いて最大となり No. 10-16 と再びその中を減じ No. 17-

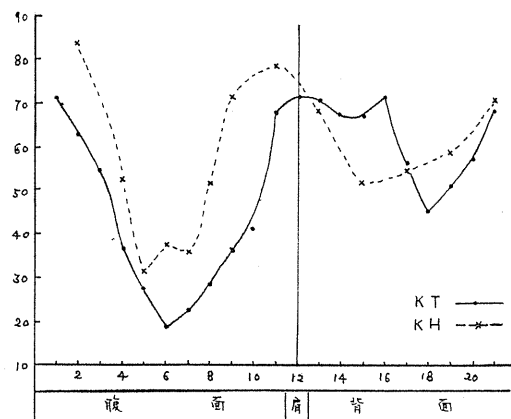


Fig. 3.

Ordinate is an angle of inclination of the first half of R-loop from the horizon. Abscissa, a number of the Fig. 2.

21に於いてはほとんど直線的である。

KH についても多少のずれはあるが同じ傾向である。

c) R-loop 中の起始点の占める位置を見るに, KT についてはその変化は No. 1-5 まではずかか或いはほとんど見られないが No. 6-10 と次第に左方に移動して, No. 9, 10 で最も左方に偏り, No. 11-15 と右方に移動し No. 16-21 に於いて再びもとにもどって来る.

KH については No. 2-4 は左方にあるが No. 5, 6, 7 と次第に右方に移動し No. 6 に於い

て最も右方に偏り, No. 7, 8 とその名残りを留め No. 11-21 に於いては再び元に戻っている.

2) F_1' について

縦軸を F_1 と同様に固定して, 横軸を探索軸として, 第 1 肋間から第 8 肋間まで種々の高さで, 探索軸の長さを変えて得られた vector loop を Fig. 4 に示す第 1-8 肋間の高さを夫々数に対応して No. 1-8 で表わす.

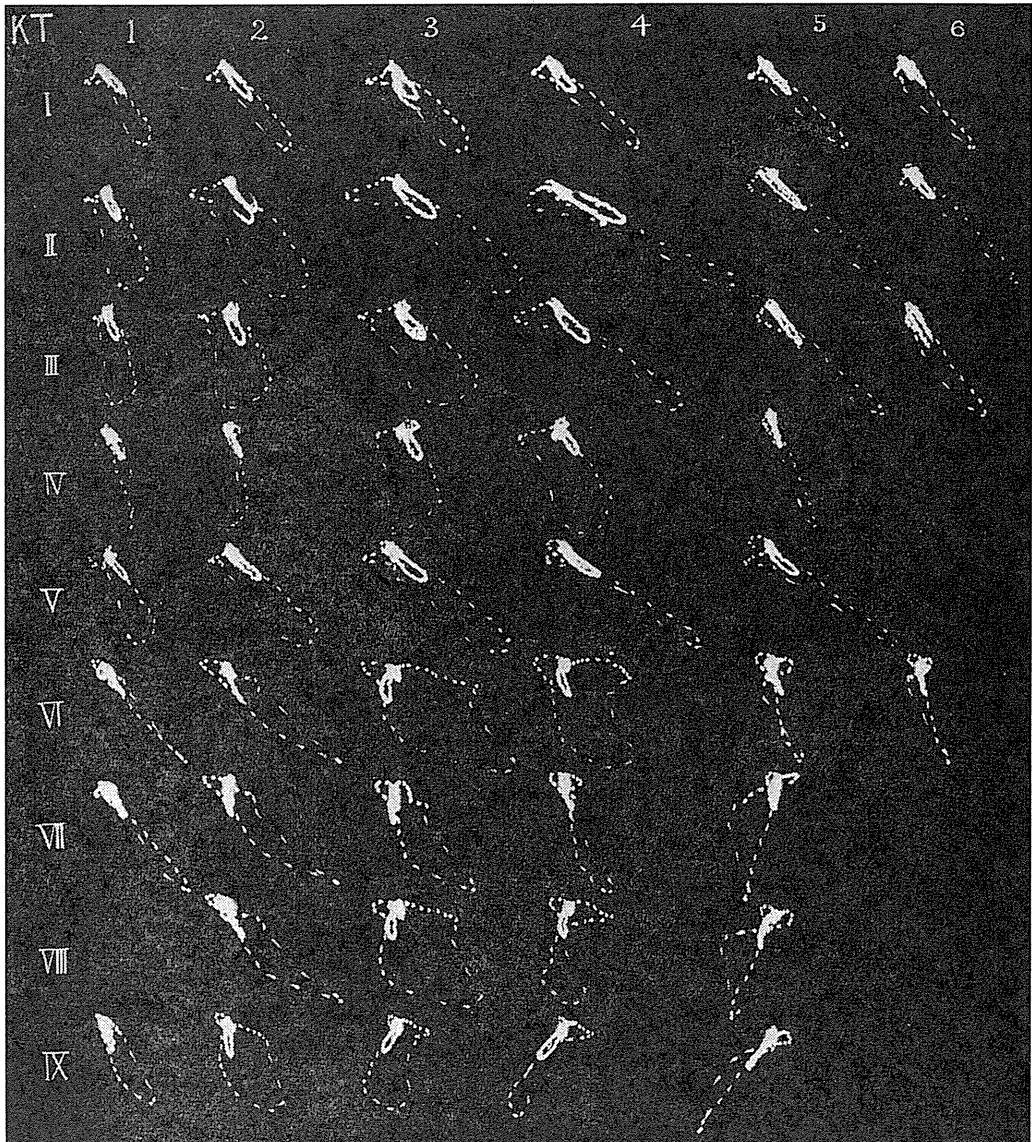


Fig. 4, 1.

F_1' , 1. Vertical and horizontal axis are the same as on the Fig. 2., but a horizontal width of the leads is shown in various degrees in length.

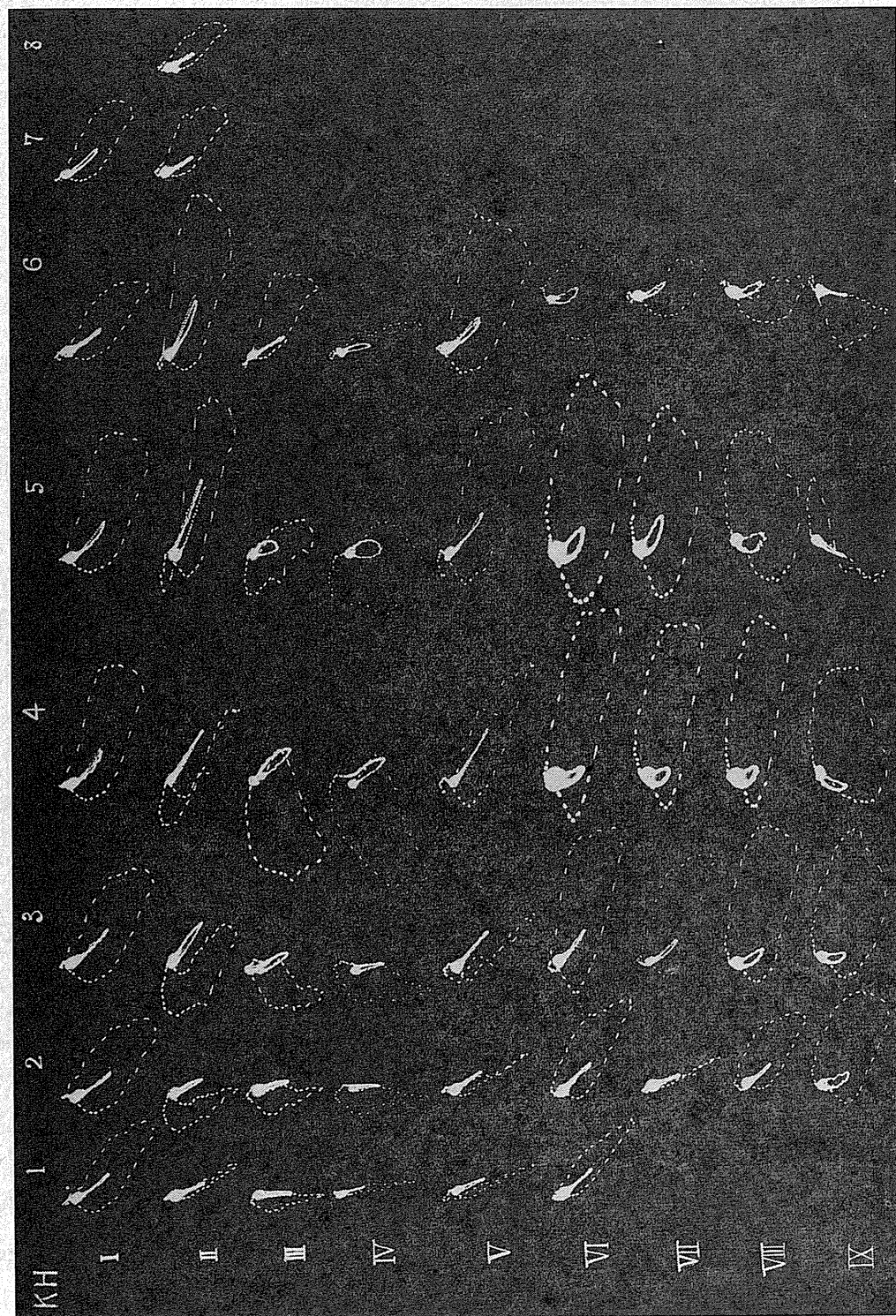


Fig. 4, 2. F1, 2.

a) R-loop に於ける前半の傾きを見るに、KT についてはⅠでは大差なく同じ傾きを持っている。Ⅱ、Ⅲでは No.1-3 と次第に横になり No.4 に於いて最も横になり No.5-6 と次第に立っている。Ⅳ、Ⅴ、Ⅵもその傾きの程度が多少強いが同じ傾向をもっている。Ⅶ、Ⅷ、Ⅸでは前と同じ傾向であるがその程度が強くなり No.4 又は No.5 で垂直を越えて逆の方向に傾いている。

KH については、Ⅰ、Ⅱでは全体的に大体同程度の傾きであるが No.4,5 に於いて最も横になり、No.6,7 と再び次第に立って来る。Ⅲでは No.1,2 に於いて垂直であり No.3,4 と逆方向に傾き No.5 で元に戻って少し傾き No.6-8 と多少立って来るようである。ⅥもⅢと同じ傾向を持っている。Ⅴでは No.1-3 と次第に横になり No.4,5 に於いて最も横になり、No.6 と多少立って来るようである。Ⅵ、Ⅶ、Ⅷは共

にⅤと同じ傾向を持っている。Ⅺでは No.2,3,4 と横になり No.5,6 に於いては水平を越えて横になっている。

b) R-loop の形を見るに、KT については、Ⅰでは No.1-6 に於いて大いなる差はほとんど認められない。Ⅱでは No.1-3 に於いて巾が広いが No.2 に於いて特に広く No.3-6 と巾が狭くほとんど直線状である。Ⅲでは No.1 より No.2,3 に於いて巾が広くなり No.4-6 で著しく巾が狭くなっている。Ⅳでは No.3,4 に於いて巾が広く他は著しく狭くなっている。Ⅴでは No.1-3 に於いて巾が広く No.4,5 に於いて著しく巾が狭い。Ⅵでは No.1,2 と次第にその巾を増し No.3,4 に於いて最大となり No.5,6 に於いて著しく巾を減じ No.5 に於いて loop が捻れ No.6 に於いて loop の廻転の方向が逆転している。Ⅶでは No.1-3 と巾を増し No.4 に於いて loop が捻れて巾が狭く

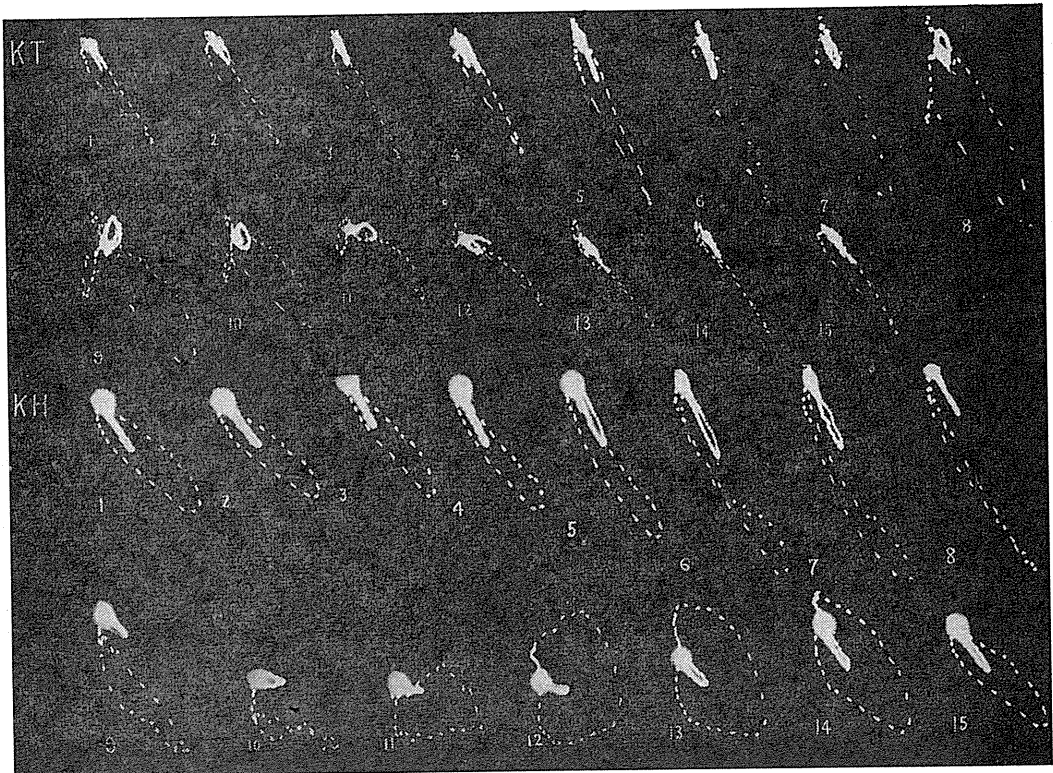


Fig. 5.

F₂. Horizontal axis is fixed on the Grishman's lead A. Vertical axis is, as an exploring one, displaced parallel with the Grishman's lead C.

なり No. 5 に於いて廻転の方向が逆になり相当の巾がある。Ⅷでは No. 2, 3 と巾を増し No. 4 に於いて loop が捻れて廻転方向が逆転する。No. 5 に於いても同様、Ⅸでは No. 1, 2 とその巾を増し No. 3 に於いて巾を減じ No. 4 に於いて捻れて No. 5 も同様である。

KH については、Ⅰでは No. 1-6 に於いて大いなる相異はほとんど認められない。Ⅱでは No. 1-3 と巾が広くなり No. 4 に於いて急に巾が狭くなり No. 5 に於いて再び相当の巾となり loop 廻転の方向が逆転し No. 6 に於いて更に巾を増し No. 7 に於いて再び巾を減ず。Ⅲでは No. 1-4 と次第に巾を増し No. 5 に於いて大きさを減じ No. 6 に於いて廻転方向が逆転し No. 6-8 と巾を減じて行く。ⅣではⅢと同様の傾向である。Ⅴでは No. 1, 2 に於いては直線状であるが、loop の尖端と終止部とに捻れを持ち No. 2, 3 に於いて明らかになり No. 4 に於いて

loop 尖端の捻れがなくなるが名残りを留め No. 5, 6 に於いて巾が増している。Ⅵでは No. 1-5 まで次第に巾も大きさも増しているが No. 6 に於いて大きさが小さく円となっている。Ⅶ,ⅧではⅥと同様の傾向を持っている。Ⅸでは No. 2-4 と大体同じ巾と大きさであるが No. 5 に於いて捻れ loop の廻転の方向が逆になっている。

c) R-loop 中の起始点の占める位置を見るに、KT については、Ⅰでは唯 No. 3 に於いて、他のものに比して起点が多少右方に偏っている。Ⅱでは No. 2, 3 に於いて起点が目立って右方に偏っている。Ⅲでは No. 3, 4 に於いて起点は右方に偏っている。Ⅳでは No. 3, 4 に於いて起点は右方に偏っている。Ⅴでは No. 1-5 に於いて起点の左右の動きは見られない。Ⅵも同様である。Ⅶでは No. 1-4 に於いて左右の起点の偏りはないが No. 5 に於いて loop が

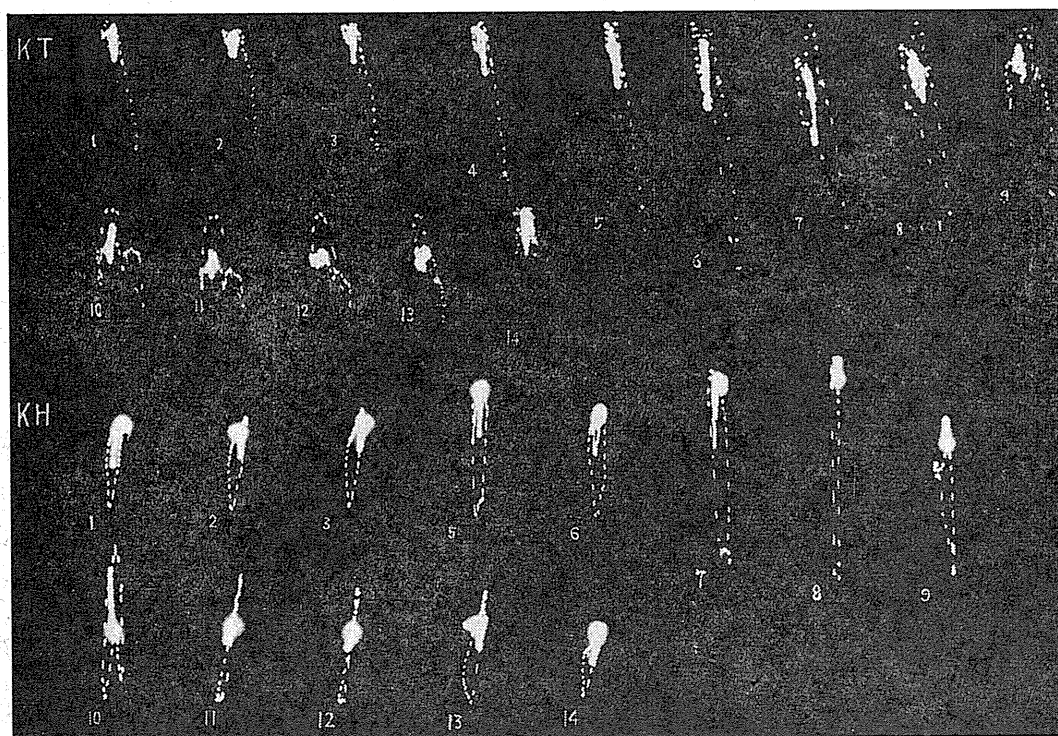


Fig. 6.

S₁. Horizontal axis is fixed on the Grishman's lead B. Vertical axis, as an exploring one, is displaced parallel with the Grishman's lead C.

逆転しているので起始点は大きく左方に偏ったことになる。Ⅷ, ⅨではⅦと同様に No. 4, 5 特に No. 5 に於いて起点の動きは左側に大きい。

KH については, Ⅰでは No. 1-6 を通じて目立った変化がない。Ⅱでは No. 2-4 に於いて起点は右方に偏り, No. 3 に於いて最も右方に偏り No. 5 に於いてわずかにあり, No. 6, 7 に於いてはほとんどない。Ⅲでは起点は loop の右側によっているが No. 5 に於いてほぼ中央に來り, No. 6-8 と右側による。Ⅴ, Ⅵ, Ⅶでは No. 1-6 を通じてほとんど起点の位置に変化がない, 唯, Ⅵの No. 9 に於いて起点が右側に偏っている。Ⅷでは No. 2, 3, 4 とほとんど変わらず左側にあり No. 5 に於いて少し右方に偏っている。No. 6 に於いて真中に来ている。Ⅸでは No. 2, 3 と左方に位しているが No. 4 で少し右方に偏り No. 5 で中央よりやや右方にあり No. 6 に於いては右側に来ている。

3) F_2 について

横軸を固定して, 縦軸を探索軸として胸廓の右側壁 (No. 1-3)→前壁 (No. 3-9)→左側壁 (No. 9-12)→後壁 (No. 12-15), と一循した (Fig. 5). その間に於ける,

a) R-loop の前半に於ける傾きを見るに, KT については No. 1-4 はほぼ同じ傾きを持っているが No. 5-7 とわずかに立ち No. 8-12 に於いて次第に横になり No. 13-15 とわずかに立って来る。

KH についても程度の差はあってもほぼ同じ傾向を持っていると云える。

b) R-loop の形を見るに, KT については No. 1-6 と同じ巾であるが No. 7, 8 と次第にその巾を増し No. 8, 9 で最大となり No. 11-13 と次第に巾を減じ, No. 13-15 に於いて直線状になる。

KH について No. 1-8 と次第にその巾を減じて No. 8 に於いて直線状になり No. 9 で再び増

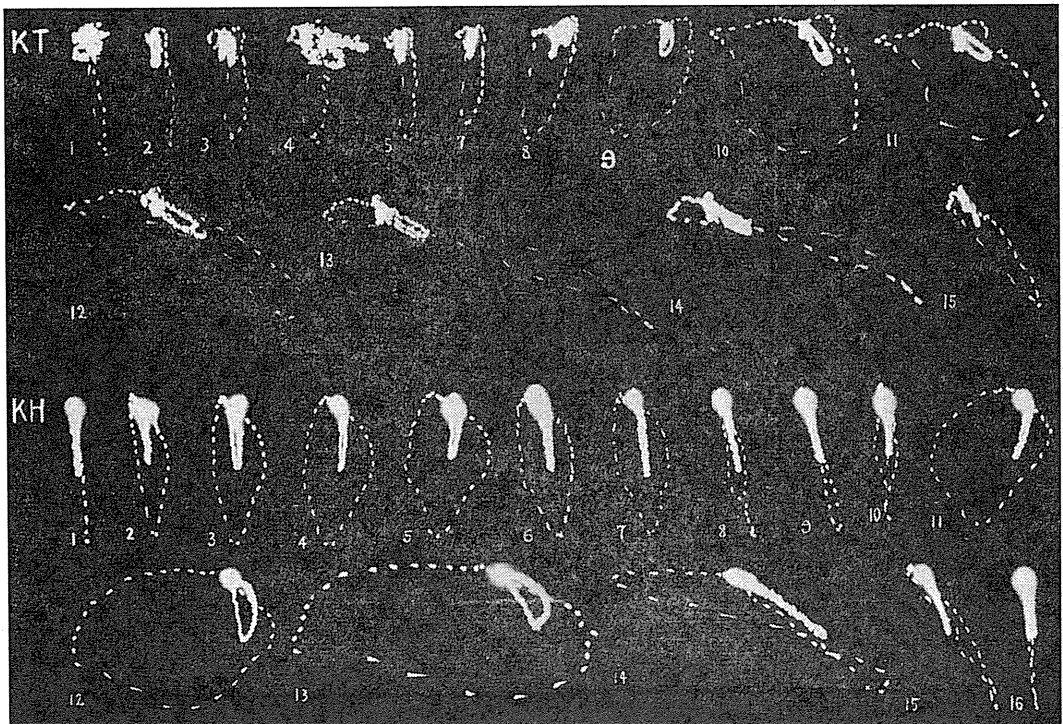


Fig. 7.

S_2 . Vertical axis is fixed on the Grishman's lead C. Horizontal axis, as an exploring one, is displaced parallel with the Grishman's lead B.

加し No. 11-13 と巾を増し No. 12, 13 に於いて円形に近づく最大となり No. 14, 15 と減少している。

c) R-loop 中の起始点の占める位置を見るに、KT については No. 1-15 を通じて上部に位しているが、KH については No. 1-9 までは上方に位しているが、No. 10 では loop の終止部が延び上って来たのでやや下方 No. 12 で中央まで下り No. 13-15 と次第に上方に移動し No. 15 に於いて上部に位置している。

4) S₁ について

横軸を固定して、縦軸を探索軸として胸廓の右側壁 (No. 1-3)→前壁 (No. 3-9)→左側壁 (No. 9-12)→後壁 (No. 12-14) と一循した (Fig. 6), その間に於ける、

a) R-loop の前半に於ける傾きを見るに、KT については No. 1-14 を通じて大体同じで

あるが特に No. 10-12 に於いて傾きの差がない。

KH については No. 1-14 を通じて同じ方向であるが No. 11, 12 で多少右側に倒れている。

b) R-loop の形を見るに、KT については No. 1-14 を通じて大差なく No. 7-9 が多少巾が広がって居り、No. 9-13 に於いて loop が捻れている。

KH については No. 1-14 を通じて大体同じ巾であるが、No. 11, 12 が直線状である。

c) R-loop 中の起始点の占める位置を見るに、KT については No. 1-5 に於いては loop の上部にあり No. 6 から多少下り No. 10 に於いては中央より少し上部にあり、No. 11 では中央より少し下部にあり、No. 12-13 と上り No. 14 に於いて上部に至る。

KH については No. 1-9 と上部にあり No. 10

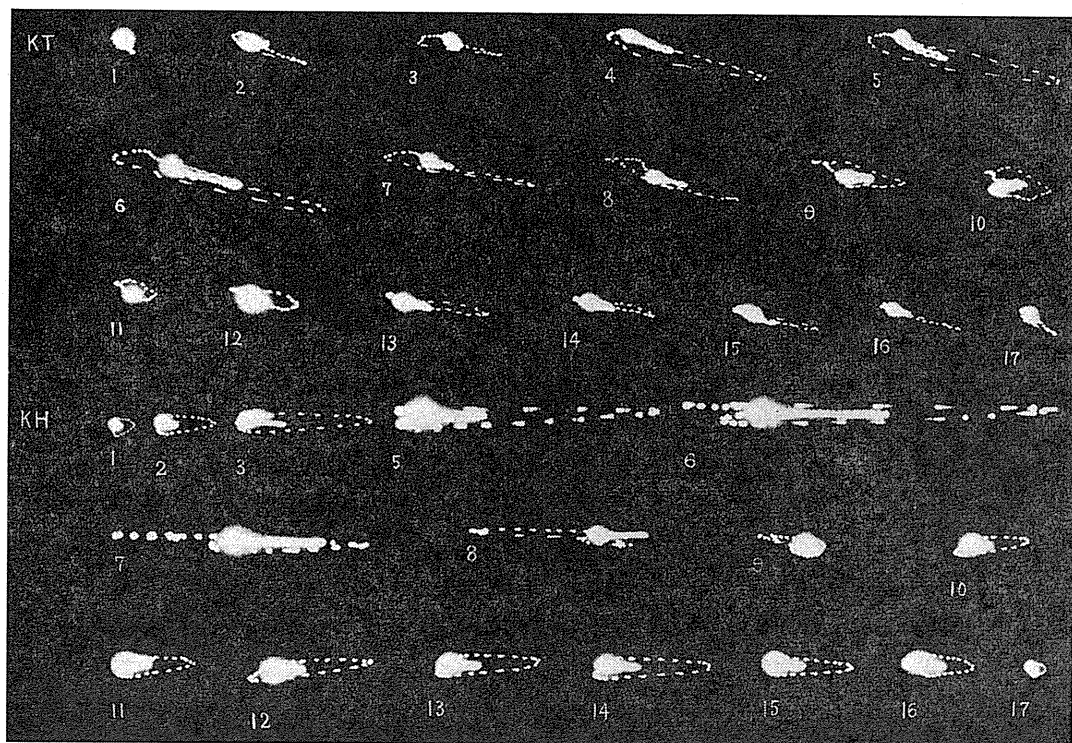


Fig. 8.

H₁. Vertical axis is fixed on the Grishman's lead C. Horizontal axis, as an exploring one, is displaced parallel with the 3-4' lead of the Fig. 1. (the 3-4' lead is parallel with the Grishman's lead A).

で中央まで下り再び上って No. 14 で上部に来る。

5) S_2 について

縦軸を固定して、横軸を探索軸として胸廓の右側壁 (No. 1-7) を下より腋下に向って昇り、今度は左側の腋下より左胸壁を (No. 8-16) 下に向って移動した (Fig. 7), その間に於ける、

a) R-loop の前半に於ける傾きを見るに、KT については No. 1 は右側に傾いているが No. 2 で垂直になり No. 3-10 に於いては次第に左側に傾き No. 10 に於いて再び垂直になり No. 11-13 と右側に横になり No. 15, 16 とその傾きの度を減じている。

KH については多少の差違はあるが KT に類似している。

b) R-loop の形を見るに、KT については No. 1, 2 と巾が狭いが No. 3-7 と多少巾が広くなり No. 8-10 と次第に巾が増して No. 10 で円形に近づき No. 11 で巾が少くなり No. 12

で細くなり No. 13, 14 で捻れるが No. 15 に於いて元に戻る。

KH については No. 1 は直線状であるが No. 2-5 まで次第に巾が広くなり No. 6-10 まで次第に巾が減じ No. 11-13 と巾が広く No. 14 に於いて捻れ No. 14-16 と巾を次第に減ずる。

c) R-loop 中の起始点の占める位置を見るに、KT については No. 1 に於いて左側によっているが No. 1-6 までは何れも明らかでないが、No. 8-10 に於いて多少右側によっているが No. 10 に於いて次第に右によって来て No. 11 に於いてほぼ中央に No. 12, 13 と右側に移動し No. 14, 15 とその位置を維持している。

KH については KT と比較して No. に対するずれは、大体に於いて同じ傾向を持っている。

6) H_2 について

縦軸を固定して、横軸を探索軸として胸廓の下方より上った後に後壁を下方に下った (Fig. 8), その間に於ける、

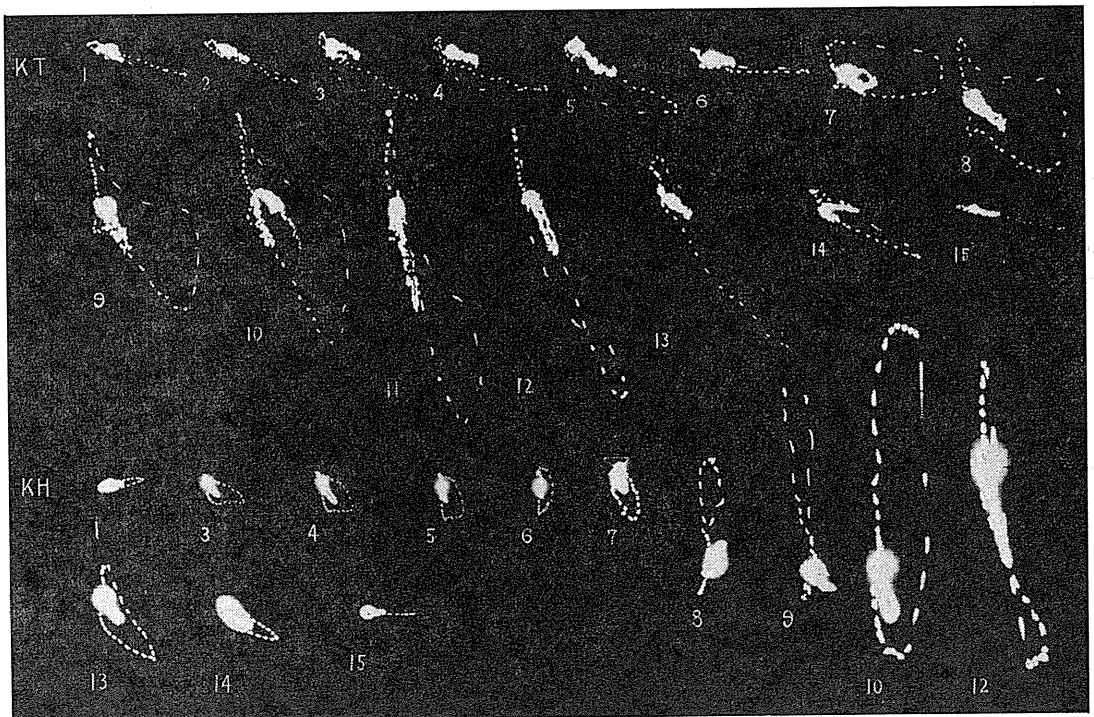


Fig. 9.

H_2 . Horizontal axis is fixed on the 3-4' lead of the Fig. 1. Vertical axis is displaced parallel with the 3-1 lead of the Fig. 1. (the 3-1 lead is parallel with the Grishman's lead B).

a) R-loop の前半に於ける傾きを見るに、KT については No. 1-17 の全域に渉って大した変化を認める事が出来ないが No. 9-11 で多少横になっている。

KH については No. 1-17 の全域に渉って傾きはゆるやかな変化をなしているが No. 7 から No. 8 に、No. 9 から No. 10 に移る所に於いて逆転している。

b) R-loop の形を見るに、KT については No. 1-3 と巾が狭くほとんど直線状であり No. 4, 5 と巾が広くなり No. 6, 7 と巾が狭く No. 8 に於いて更に巾が狭く直線状になり多少捻れ No. 9 に於いて loop の廻転が逆になり No. 9-12 と相当広い巾をもち No. 13-17 と次第に巾を減ずる。

KH については No. 1-17 を通じて巾の変動は大して見られない。

c) R-loop 中の起始点の占める位置を見るに、KT については No. 1-3 と左端にあり No. 5, 6 と右方に移動し No. 7 に於いて中央を占め No. 8, 9 と右端に至り No. 10 に於いて左端近くにあり No. 11-17 と左端に位している。

7) H_2 について

横軸を固定して、縦軸を探索軸として胸廓の右側壁 (No. 1-6) を上に向かって腋下まで昇り、今度は左側壁 (No. 7-15) を腋下より下に向かって移動した (Fig. 9), その間に於ける、

a) R-loop の前半に於ける傾きを見るに、KT については No. 1 は右側に横位に近く傾いているが No. 2, 3 と少し立ち再び横になり No. 6 で全く横位となる。No. 7 は横位より更に傾いているようであるが No. 8-11 と次第に立位になり No. 11 では立位に近づき No. 12-15 と次第に横になって No. 15 に於いてほぼ横になっている。

KH については No. 1 は右側に横位を越えて傾いているが No. 2-6 と次第に立って来て No. 6 に於いて垂直となる。No. 7 に於いて右側に傾き No. 8 に於いて急に横位を越えて垂直位に傾き No. 9, 10 も同様であるが No. 12 に於いて

は更に垂直を越えて傾き No. 13 に於いて急に右側に少し傾き No. 14, 15 と横位に近づき No. 15 に於いて右側横位となる。

b) R-loop の形を見るに、KT については No. 1 に於いてはほとんど直線状であるが loop の末端に於いて少し捻れを見せている、loop の廻転は下向きである、No. 2-5 と次第に巾を増し No. 6 に於いて再び巾を減じ直線状となるが loop の廻転は上向きに変る。No. 7, 8 と次第に巾の増加を見 No. 8 に於いてほとんど円形に近づき後 No. 9, 10 に於いてなお相当の巾を持ち No. 11-15 と次第に巾を減じ No. 15 に於いて直線状になる。

KH については No. 1-4 と次第に巾が広くなり No. 5, 6 と巾が狭くなり No. 7-10 と巾が次第に広くなり No. 12 に於いて捻れ No. 13-15 と次第に巾が狭くなり No. 15 に於いて横に直線状になる。

c) R-loop 中の起始点の占める位置を見るに、KT については No. 1-6 に於いて左端の上方にあり大した差異は認められないが No. 7 に於いて中央よりやや下方にあり No. 8-15 と次第に上方に移動して左端上方近くに至る。

KH については No. 1 に於いて左の下方にあるが No. 3-5 に於いて左の上方にあるが No. 6 に於いて中央より稍上方にある。No. 7 に於いては上部にあるが No. 8 に於いて中央より下方にあり No. 9 では下端近くにあるが No. 10 に於いては中央より稍下方にあり No. 12 に於いては中央より上方にあり No. 13, 14 と上方に来る。

Ⅳ. 考 按

以上の実験結果より見るに、 F_1 ($F_1' : F_1$ に準じて考えてよいと思うが誘導軸の巾の差違による影響が現われているようである) と H_1 , F_2 と S_1 , S_2 と H_2 は夫々固定した誘導軸は相異なっているが探索軸は同じであるから、その結果も類似している。

探索軸が心臓に近づくに従って loop 前半の傾きが明らかに目立って立位になったり横位にな

ったりするが $\{F_1(F_1')S_2H_1\}$ では横位に $F_2S_1H_2$ では立位に} これは縦又は横に loop の大きさが増すことを意味する. 例として F_1 を挙げると Fig. 3 のようである. 胸廓前壁に於いては心臓部位に近づくに従って急に立って来るが, 後壁に於いては余り急ではなくゆるやかに増している. 前壁は後壁に比べて筋層も薄く一部は肺臓を介することなく前壁に接している事等によるのであろう.

この loop の大きさが増すに伴って loop の巾が広がっている. これは心臓に近づく為に起る所謂近接効果に類似した現象であらう, しかし loop の大きさの増している部位と巾の広がっている部位とは必ずしも一致していないから心臓内に於ける興奮伝播の方向の影響を受

けているのであろう.

次に loop の起始点の位置は, F_1 と H_1 に於いては胸廓の上部(第2-3肋間の高さ)で左方に移動している. 若し胸廓が一様の容積導体であり起電力の中心も定位置にあるならば loop の起始点も亦 loop の定位置にあるはずであるから, 上記の事は心室の刺激伝導系の右脚に比べて短いので心室筋の興奮が右方より左方に伝播するのではあるまいか.

同様に F_2 と S_1 について見るに左側壁の後又は中腋下线で程度の差違はあるが下方に移動している. 又 S_2 と H_2 については左側壁第4肋間の高さ附近に於いて後方に移動している(これ等の移動の割合を考慮).

此等3方向より心室の起電力の中心は興奮が始まり心室全体にゆき渉るまでに, その径路は分らないが, 左後下方に移動するものと考えられる (Fig. 10). 依って次の結論を得る.

V. 結 論

左前胸壁の上半部に誘導軸がある場合には他の部にある場合と比べて loop の大きさは非常に大きく形も心筋内を伝播する興奮の時間的な位置によって変化し, 心臓の起電力の中心も一定と見なし得ず左後下方に移動するものと考えられる.

最後に, 御指導を受けた恩師戸塚武彦教授及び御教示並びに御援助下さいました先輩上田篤次郎博士, 学友加藤漸講師に感謝の意を表す.

文 献

- 1) Grishman, A. and others (1951) Technique for the simultaneous recording of the frontal, sagittal and horizontal projection. Am. Heart J. 41, 483
- 2) Grishman, A. and Scherlis (1952) Spatial vectorcardiography. W. B. Saunders
- 3) 戸塚武彦 (1956) 刻時式ベクトル心電計 呼吸と循環 4, 6

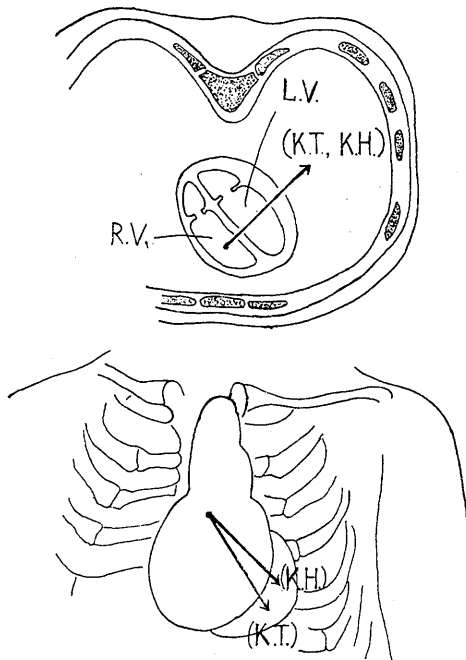


Fig. 10.

Centre of electromotive forces is not the fixed point, but moves toward the direction of the figure.

Summary

Regarding chest as a hexahedron like Grishman's leads, one axis is fixed, and another being at right angle with that is displaced parallel. And then, the axes are joined with cathode ray oscilloscope.

The changes taking place to parallel displacement of the axis are observed as a change of vector-loop, and QRS-loop being big and easy to see is preferred.

At first, the researching axis is displaced parallel with Grishman's lead A (1-2) on the frontal and back plane of chest, Grishman's lead C (1-4) or B (3-1) being fixed.

Next, the researching axis is displaced round the surface of chest, Grishman's lead A (1-2) or B (1-3) being fixed.

And, the researching axis is displaced on the lateral plane of chest, Grishman's lead C (1-4) or B (3-1) being fixed.

The changes of the QRS-loop recorded in this manner on the shape according to the displacement of the axis is studied, and the following conclusion is drawn.

The QRS-loops are larger when the researching axis runs on the upper part of the left side of the chest than on the other parts of that.

The changes on the shape of QRS-loop show the propagation of excitation in the heart.

The centre of the electromotive forces caused by the heart muscles is not immovable, but moves in the direction of the left and back side.

(Department of Physiology, Nippon Medical School)

運動単位導出の誘発筋電図による脊髄ならびに神経筋間

シナプスにおける促進および抑圧の研究 612.833.96

Studies on facilitation and depression in spinal and neuromuscular synapses
by means of evoked electromyograms in motor unit leading

伊 谷 昭 幸 (ITANI-Teruyuki)*

I. 緒 言

正常人体において、人為的に求心性神経に生ぜしめたインパルスが脊髄シナプスを経て後、支配筋に活動電位を生ぜしめるということが P. Hoffman (1910)¹⁾により報告せられ、人体における反射やシナプス等の興奮性経過を追求する可能性が提示された。

J. W. Magladery^{2,3)} は同様の実験を行なって、その際遠心性神経刺激によって起った筋活動電位を M 波、P. Hoffman の見た筋活動電位を H 波と名付け、その一連の実験で健常人の H 波および M 波を追求して、それぞれ脊髄運動ニューロンおよび神経筋接合部における伝達興奮性の変化（興奮性回復曲線）、および伝達の促進ならびに抑圧現象を観察し、人体におけるこの方面の進歩に大きな影響を与えた⁴⁾⁵⁾⁶⁾。

M 波及び H 波の強さ-期間曲線及び二重刺激による興奮性回復曲線から、人体における反射弓の一般的性質が漸次明らかとなったが⁷⁾⁸⁾、著者および陶山⁹⁾¹⁰⁾ は先に単極針電極を用いて運動単位活動電位の導出を試み、それを示標とする H 波および M 波の強さ-期間曲線と二重刺激による H 波および M 波の興奮性回復曲線をえがいた。

従来みられた H 波および M 波の伝達興奮性回復曲線⁸⁾ は皮膚表面より導出された電位観察によりえがかれたものであるが、これは多くの運動単位の活動電位が複合して観察されるものである。これに比し著者等のえがいた興奮性回復曲線は 1 個の運動単位の活動電位によったもの

であって、前者に比しはるかに清純な本質を示すものである。従って後者は前者の経過を説明する基礎的事実を示すのであるが、この両者を比較するに 1, 2 明白を欠く点が存在する。

第 1 に表面導出による H 波興奮性回復曲線には両刺激間隔 5-20 msec, M 波のそれには 3-15 msec 辺りに、いわゆる 1st facilitation (第 1 促進) が存在するが、運動単位導出のそれにはこれに相当する促進が全然見られない。次に表面導出の M 波の回復曲線には 50-150 msec 辺りにいわゆる 2nd depression (第 2 抑圧) が見られるが、運動単位導出のそれにはこれに当る抑圧が存在しない⁹⁾¹⁰⁾。ここに述べようとする実験はこれを更に追求するため運動単位導出の M 波、H 波につき企てられたものであって、第 1 の点を解明するため試験刺激を閾下を選び、同じく閾下あるいは閾上の前置刺激によるインパルスが閾下試験刺激による M 波および H 波伝達を促進する現象を起すか否かを見ようとするのである。また第 2 の点を追求するため M 波につき、前置、試験両刺激に種々の工夫を加えて、第 2 抑圧に相当する抑圧が起るか否かを見ようとするのである。

II. 実験方法

健康成人男子の尺骨神経および脛骨神経に電気刺激を加え、その被支配筋であるそれぞれ尺側手根屈筋および腓腹筋からの筋電図を観察するのが本実験の骨子である。そのために尺骨神経に対しては前腕側面、脛骨神経に対しては膝窩にそれぞれの刺激点を求め、刺激点には直径 1 cm の銀円板をガーゼで掩った導子を皮膚上より当てて関係導子とする。他方 10×5 cm の

* 千葉大学医学部第 1 生理学教室
[昭和 35 年 9 月 13 日受付]

矩形の銀板をガーゼで掩って不関導子として同側の手又は足関節部に固着し、それらをおのの刺激装置の陰極および陽極に連結した。

導出電極には長さ 4 cm, 直径 0.17-0.15 mm の銀針に樹脂塗料を塗布焼付したものをを用いた。塗料はフェノール樹脂を主剤とするもので、接触抵抗が 7-10 $M\Omega$ に達するまで繰り返して塗布した。この抵抗値は実際に筋に完成針を刺入し、筋が相当に収縮しているにもかかわらず筋活動電位が観察されなかったことから採られたものである。使用にあたっては銀針の絶縁を針の先端で極くわずかに取り除き、1本は目的とする筋へ、1本は皮下へ刺入し、そのおののを増幅器に連結した。また被検者はシールド室内に置かれたアースされた寝台上に腹または背臥位をとらせる。このシールド室へ出入する導線はすべてシールド線を用いた。

刺激には後述の刺激装置よりの直角波を用い、本間の平衡回路法⁸⁾により矯正して用いた。刺激の加え方は先ず前置刺激を先行させ、続いて試験刺激を与え、漸次両刺激の間隔を狭めて行くのである。両刺激の間隔は最長 1060 msec から最短 0.5 msec までである。また両刺激は1群として5秒に1回の割合で与えられた。刺激

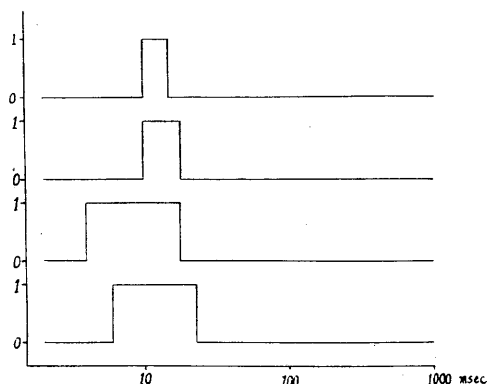


Fig. 1.

Facilitation curves of the M wave with subthreshold conditioning stimulus.

Spike potential is observed at the interval of several to about 30 msec.

Ordinate is the rate of the height of spike potential, and abscissa is the interval between both stimuli in msec on logarithmic scale.

強度は、促通に関する実験では前置刺激は閾上あるいは閾下、試験刺激は常に閾下であり、M波の興奮性回復曲線の第2抑圧についての実験では両刺激共に閾上であった。

刺激装置は本間⁸⁾の考案になる Electrostimuloanalyzer 及び Synapsometer を用いた。本装置は刺激のみならず差動増幅器、観察および記録用 Braun 管、刺激用平衡回路も同時に組み込まれ、かつアースレベルより完全に絶縁されているものである。

Ⅲ. 実験成績

A. 閾下試験刺激につき見られる促通

1. M波促通

a. 前置、試験刺激共閾下の場合

刺激および活動電位記録は尺骨神経-尺側手根屈筋、あるいは脛骨神経-腓腹筋である。なおこの実験においては、刺激点導出点の違いにもかかわらず実験値に差が見られなかったので単にM波として一括して述べる。

前置刺激および試験刺激共に個々では刺激強度をM波が出現しない程度の閾下として両者神経に与えると、その間隔が一定以上大きいときはそれぞれの筋のM波を見る事ができない。そしてその両刺激の間隔を狭めてゆくと、ある一定の間隔から試験刺激に対してのみ筋活動電位(M波)が出現し始める。更に間隔を狭めてゆくとしばらくは筋活動電位は出現し続けるが、間隔が極く狭まると試験刺激に対する筋活動電位は出現しなくなる。第1図は試験刺激に対する筋活動電位の出現間隔を4例について示したものである。

第2図はその1例についての記録で、中央の列の最上段から試験刺激に対する活動電位が出現し始め、右列の2番目で出現しなくなっている。筋活動電位の出現し始めの両刺激の間隔は 18 msec であり、再度の筋活動電位の消失は 8 msec で起っている。右列の最下段の記録は筋活動電位が出現する間隔において前置刺激強度を零にすると、今まで出現していた試験刺激に対する筋活動電位は出現しなくなる事を示して

いる。この事から筋活動電位出現に対して前置刺激が関与している事がわかる。一方両刺激間隔が活動電位を得ているような間隔において、閾下である試験刺激の強度を弱めた場合、活動電位が消失する。このことは以下の事柄とも考え合わせて、活動電位は試験刺激に対するM波であると看做される。即ち筋活動電位を試験刺激による直接的応答としてその応答時をみると

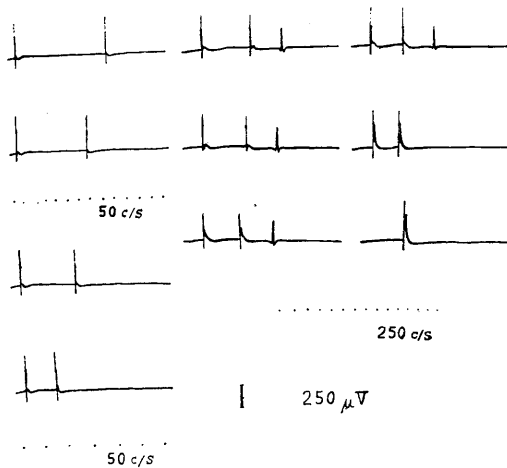


Fig. 2.

Appearance of the spike potential in a case involved in Fig. 1.

The interval between both stimuli: 165, 120, 48, 26 in the left row; 18, 16, 13.6 in the middle, and 11.5, 8 msec in the right, all from top to bottom. The last trace in the right row shows that the spike potential by testing stimulus disappears when the conditioning stimulus is withdrawn.

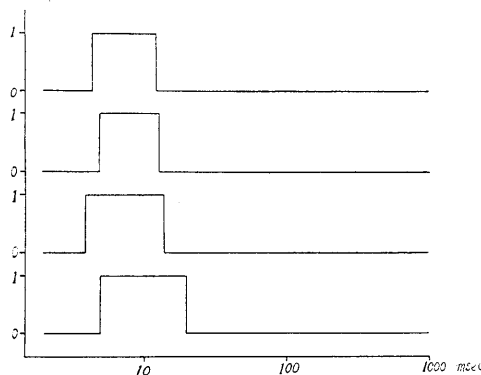


Fig. 3.

Facilitation curves of the M wave with suprathereshold conditioning stimulus.

数 msec から 10数 msec までの範囲にある。これは J. W. Magladery, 藤森²³⁾⁵⁾らによるM波であり、またその電位の高さが $300 \mu V$ 以下であり、その期間は 1.5-4 msec, その出現の態度は試験刺激に対して全か無かの法則に従っていることから、閾下の試験刺激の前置刺激によって有効となり得て生じた活動電位であり、運動神経刺激によるM波と考えることができる。

b. 前置刺激が閾上、試験刺激が閾下の場合

前項と異なるのは前置刺激が閾上であることである。閾上の前置刺激で見られるものは前項と同様にM波である。試験刺激は閾下の強度に保たれる。この両刺激の間隔を狭めて行くと、試験刺激に対するM波がある間隔より出現し、第3図に見るような出現経過を示す。その中の1例についてM波の出現、消失の経過を示したのが第4図である。

2. H波促進

a. 前置、試験両刺激とも閾下の場合

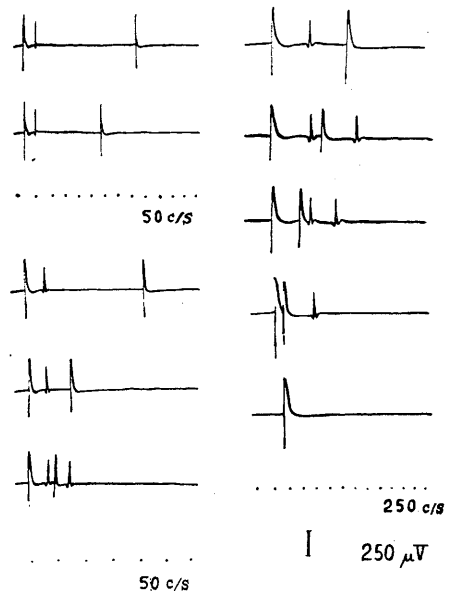


Fig. 4.

Appearance of the spike potential in a case involved in Fig. 3.

The interval between both stimuli: 165, 112, 55, 34, 20 in the left row; 23, 16.5, 8, 2 msec in the right row, all from top to bottom.

刺激は脛骨神経に加えられ、活動電位は腓腹筋より記録された。条1の場合と筋活動電位記録個所が異なり、多くの場合針電極は腓腹筋の深層に挿入された。基本的な区別は応答時の長短によるのであり、以下記す通り応答時が30数msecにおいて現われる所謂H波を示標として夫々閾下刺激強度を定めた。

前条と全く同様にして実験を行ない筋活動電

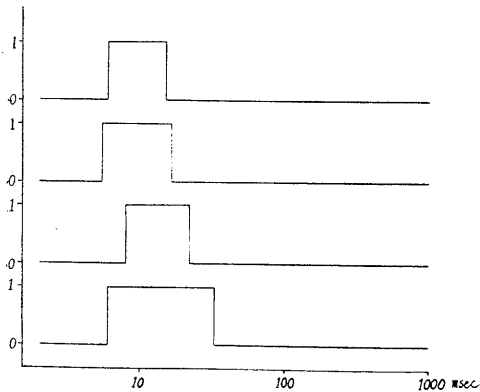


Fig. 5.

Facilitation curves of the H wave with subthreshold conditioning stimulus.

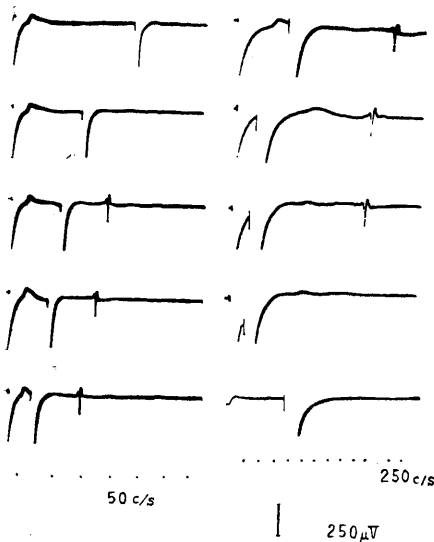


Fig. 6.

Appearance of the spike potential in a case involved in Fig. 3.

The interval between both stimuli: 85, 48, 33, 28, 15, in the left row; 16, 10, 8, 6 msec in the right row, all from top to bottom.

位出現の経過を第5図にしめした。第6図はその1例の記録例である。第6図からわかるように、観察された電位はM波と異なりその応答時が著しく長く、P. Hoffman, J. W. Magladery, 藤森¹⁾²⁾³⁾⁵⁾らによるH波である事は明らかである。そして前置、試験面閾下刺激に対し、H波は左列の第3番目より右列の第3番目までの記録において出現している。この右列の第3番目と同一間隔において前置刺激をなくすれば、その最下段の記録に見る如くH波は出現しない性質のものであり、前置刺激の促通効果によって現われることを示す。

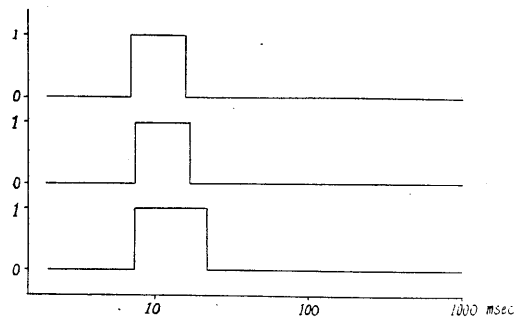


Fig. 7.

Facilitation curves of the H wave with superthreshold stimulus.

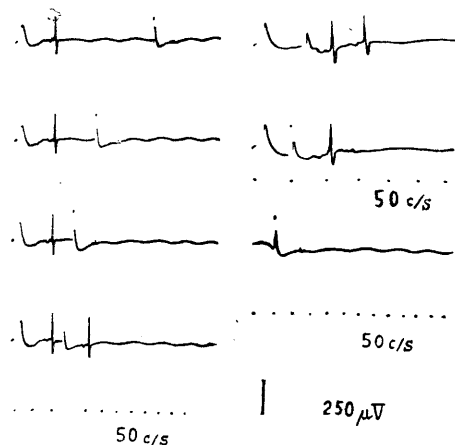


Fig. 8.

Appearance of the spike potential in a case involved in Fig. 7.

The interval between both stimuli: 100, 50, 37, 22 in the left row, 12, 8 msec in the right row, all from top to bottom.

b. 前置刺激閾上, 試験刺激閾下の場合
前置刺激が閾上であってもH波スパイク出現の経過を示す. 第7図および第8図に見るようにはやはり促通効果を見ることが出来る.

3. 小 括

上に見る如くM波においても, H波においても試験刺激を閾下刺激とする場合, 二重閾下刺激によってM波あるいはH波スパイクを出現せしめることが出来た. この両波の出現するための前置, 試験刺激間の間隔を一括したのが第1表である. この表からM波, H波は共に二重刺激のある定った間隔範囲においてのみ出現していることを見る. 刺激が閾下であるにもかかわらず活動電位を認めるところから前置刺激による試験刺激インパルス伝達の促通と断ずることが出来る. この発生の機序については考察の項で論ずるが, 本表より更に次の事柄を見ることができよう. 即ち間隔範囲の最大の幅は前置刺激が閾下である場合, H波では 33-5.5 msec (平均 28-7.4 msec), M波では 23-4 msec (平均 18-7.5 msec), 同様に前置刺激が閾上の場合にはH波は 22-7 msec (平均 18-7.5 msec), M波では 20-4.5 msec (平均 15-5 msec) である. これらの値から前置刺激が閾下である場合, 閾上の場合の間隔範囲より長く, またH波に関するものはM波に関するものより幾分長いことである.

B. M波伝達における第2抑圧

これまでシナプス伝達の興奮性回復曲線観察に当っては表面導出および単極針電極導出のいずれの場合も, その実験はすべて両刺激の強度が閾値より高い閾上の値で行なわれたものである. このような刺激強度は, いつでも示標とする筋活動電位が同じように出現することが興奮性回復曲線をえがく上で必要であったことによるのであるが, しかしながら実験対象が人間であるために刺激強度をあまり高めることは避けねばならない. この実験上相反する2つの条件を満たすため適当な閾上刺激が選ばれてきた.

表面導出により得られたM波興奮性回復曲線は第9図aに示されている. 単極針電極導出に

Table 1.

Interval range of spike appearance in all experiments.

Interval range of spike appearance		
	With subthreshold conditioning stimulus (msec)	With suprathreshold conditioning stimulus (msec)
H	15 - 6	16 - 7
	16.5 - 5.5	17 - 8
	22 - 8	22 - 7.5
	33 - 6	
M	15 - 10	12.5 - 4.5
	18 - 4	13 - 6
	18 - 10	14 - 4
	23 - 6	20 - 5

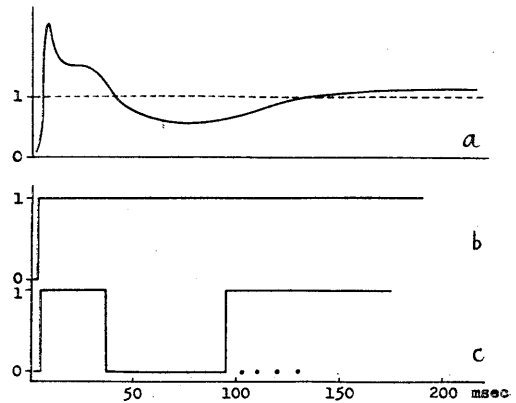


Fig. 9.

Recovery curves of M wave transmission.

Obtained a) by means of skin leads, b) of unipolar needle electrode and c) the same as in b), but with suitable choice of stimulus magnitude.

による運動単位活動電位を示標として興奮性回復曲線をえがくと第9図bの如くで, これには第9図aで明らかに見られる 100 msec を中心とする抑圧 (2nd depression) が見られない. しかし前置刺激強度をM波スパイクが変化しない範囲で極限にまで高め, 試験刺激を同様に閾値すれすれまで弱めると, 約 30 msec から 80 msec にわたる間隔の所で抑圧が現われて来るが, これは第2抑圧に相当するものといえよう (第9図c).

第10図は別の同様の例であって, aは通常の方法で得られた興奮性回復曲線, bは前置刺激を大にし, 試験刺激を閾値に近く選んで, 第2抑圧の現われた興奮性回復曲線である. この場合活動電位を与えた筋線維は同一のものである.

る。また第11図は更に別な例における、上述の2つの場合において両刺激間隔を小にするに従ってのM波スパイク起否の経過を示す。前置、試験両刺激の強度が閾上であった時、即ち第2抑圧がM波興奮性回復曲線に現われなかった時の強度を100%とすると、この際の前置刺激強度の増加は1例では20%他の例では30%であった。以上のことから前置刺激強度の増強が主として興奮性回復過程にこのような変化を生ぜしめたのであろうとの考えから次の如き実験を行

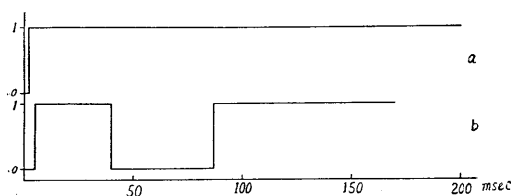


Fig. 10.

Another example of the M wave recovery curve. a) and b) corresponds to b) and c) in Fig. 9. respectively.

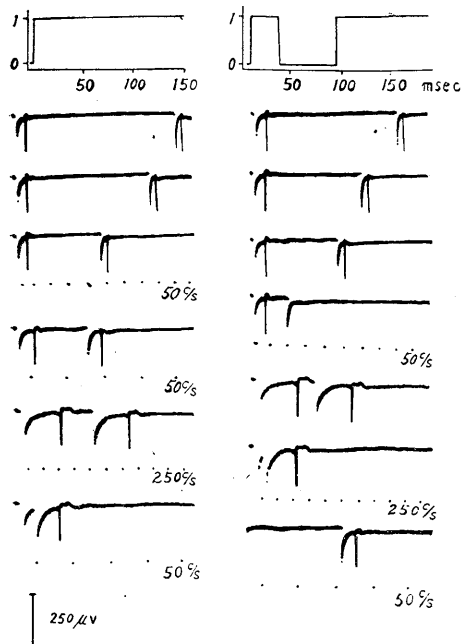


Fig. 11.

Appearance and disappearance of the spike in the M recovery curve shown on the top.

The intervals of two stimuli in both rows are from top to bottom: 175, 130, 94, 46, 14, 4 msec.

なった。

前置刺激と試験刺激共に閾値よりやや高い強度でM波興奮性回復曲線をえがくと、第12図aの如く第2抑圧は見られない。前置刺激強度のみを高めて興奮性回復曲線をえがくと第12図bの如く第2抑圧が出現する。更に前置刺激強度を高めると、その興奮性回復曲線は同図cの如くなり、bと比較すると第2抑圧の間隔範囲が延長しているのを見ることができる。

これら実験により得られた所見から第2抑圧の間隔範囲を表示すると第2表の如くである。本表によれば第2抑圧のはじまる最短の間隔は16 msec であり、それが終了する最長の間隔は113 msec であり、またそれらの平均はそれぞれ 29 msec および 89 msec であって、その間

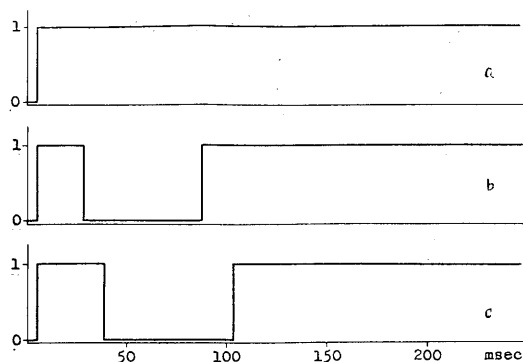


Fig. 12.

Three types of the M wave recovery curve picked up from the same muscle fiber with needle electrode by systematically intensified conditioning stimulus. Magnitude of the conditioning stimulus is successively increased from a to c.

Table 2.

Interval range of the 2nd depression of the M wave recovery curve.

Case \	Interval range of the 2nd depression	
	Appearance	Disappearance
1	36	86
2	16	70
3	25	113
4	25	96
5	20	79
6	28	83
7	44	86
8	27	105
9	28	88
10	40	102
Average	29	89

中第2抑圧が存在することを示している。しかし筋線維のすべてがいつも刺激強度を変化せしめることによって第2抑圧をしめすとは限らない。あるものはこれを現わさずあるものは刺激強度にかかわらず終始このものを現わした。

IV. 考 察

本研究において最も重要な点は、導出した筋活動電位が単一の運動単位のものであるかどうかということである。活動電位は1 mVまでの大きさであり¹¹⁾、これは本実験中前置刺激においても試験刺激においても全く同様であり、一連の実験前後においてもその振幅はいささかも変化しないもののみを選んで成績とした。この活動電位は数 msecの期間のスパイク状であり、形状もまた不変であった。スパイク自体の形状について、hump, notch 等のみられたものは最初よりこれを除外し、純粋に単一運動単位導出と目されるスパイクの導出された場合のみを選んだ。このようにして得られたスパイクは、刺激強度の僅かの増減を境として、スパイクは全か無かの法則に従って出現あるいは消失する。勿論スパイクが現われて以後、刺激を強くしてもそのスパイクは変わらず、一定の大きさをしめし続けるものである。実験開始まで、このようなスパイクを得るためには、刺激電極の位置、導出電極の挿入方法等に工夫が必要であり、これらを円滑に操作し得るまで多大の経験を要したのは当然である。この基準に合致したスパイクは1本の筋線維か少くとも興奮態度の同様な筋線維群からの活動電位であると看做することができる。これらは同一の運動単位に属する筋線維であるから、このスパイクは1個の運動単位の活動とみて考察して差支えないものである。

本研究では刺激強度を閾下、閾上と区分して成績を条項別にした。閾および閾上においては単極針電極により導出される活動電位はスパイク状であり、恒常であるが、閾下刺激においては、そのスパイクは導出されない。しかしたとえ閾下の強度であっても同じ神経に刺激が与え

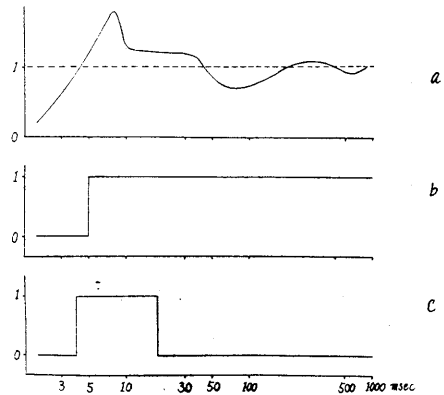


Fig. 13.

Recovery curves and facilitation curve of the M wave transmission.

a) Recovery curve obtained by means of skin leads, b) that of needle electrode and c) the facilitation curve.

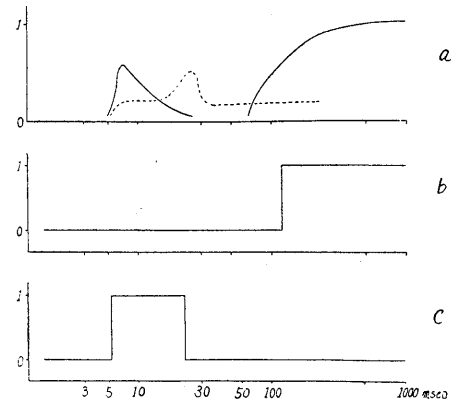


Fig. 14.

Recovery curves and facilitation curve of the H wave transmission.

a), b) and c) correspond to a), b) and c) in Fig. 13. respectively.

られているわけであり、この閾下刺激の神経に対する効果を考察する必要がある。まず第1に強度が神経に対して閾下であるために刺激が神経に対して全く無効であり、何等の変化をも生ぜしめない場合、第2に刺激電極下の神経に局所興奮が生じている場合、第3に神経そのものは興奮し、インプルスは伝導されるが、筋線維には伝達されず、筋スパイクが認められぬという3つの場合が考えられる。刺激が全く無効であるという第1の場合は、閾下刺激であってもその効果は試験刺激による反応に影響している

という実験成績から、まず除外される。第2の局所興奮のみが起っているという場合は、その時間経過よりみて比較的短いものであり、本実験でみる試験刺激による促通の持続時間に比べ、この局所興奮と対応せしめることができない¹²⁾。本研究においては結局第3の場合、即ち与えられた刺激は奏効器たる筋線維に対して閾下であっても、刺激電極下神経に対しては閾上刺激であって、インプルスは伝導されていると考えねばならない¹³⁾¹⁴⁾。このようなインプルスは神経終板あるいは脊髄内シナプスに達し、ここにいわゆる閾下縁 (subliminal fringe)¹⁵⁾¹⁶⁾の状態を惹起せしめているものであろう。この状態のところに試験刺激によるインプルスが到達し、筋線維あるいは運動ニューロンを活動せしめるに十分な状態となり、筋活動電位をみるに至ったことに他ならぬであろう。

第13図および第14図はそれぞれM波およびH波伝達につき表面電極で行なったシナプスの興奮性回復曲線⁸⁾¹⁷⁾、針電極で行なった興奮回復曲線¹⁰⁾、および著者の得た促通曲線を対照せしめて、表面導出による興奮性回復曲線を解析しようとするものである。第13図はM波に関するものであるが、興奮性回復曲線aにおけるいわゆる first peakと著者のみたcにおける促通現象とが時間的によく一致している。第14図はH波の場合であるが同様の結果を示す。本間⁶⁾、本間、陶山、加濃¹⁸⁾、鈴木、本間¹⁷⁾による興奮性回復曲線aの第1促通は、著者のみたcの促通と正に時間的に一致している。すなわちこれら表面導出の興奮性回復曲線にみられた第1促通の基礎をなすのが著者の観察であって、第1回の刺激では興奮せず、第2回目の刺激により神経筋単位があらたに興奮に参加することによって成立していると考えられる。

第13図および第14図におけるaとbとの興奮性回復曲線の比較においても、前者の第1抑圧が消退して興奮性の回復する漸増的の経過の基礎をなすのが、後者の直線的な興奮性回復なのである。この際前者が漸増的であり、時に過常期をも示すが、後者は全か無かに直線的であ

り、第1促通も過常期を示さぬ事実は、それが1個の運動単位導出によることによるのであって、この2つの曲線の差異は、過常期が運動ニューロン群中の閾下縁によって起る論拠となるのである。同様にしてaとcとの比較において、前者の第1促通が後者の促通現象で説明され、その促通がbすなわち前置、試験両刺激共閾上の場合に現われない事実は、aにおける第1促通がやはり閾下縁によって起ることを物語るものである。

閾下縁なる考え方は Sherrington¹⁵⁾ 以来脊髄運動ニューロン群について考えられているところであるが、第13図を第14図に比べて分る如くH波についてみる事実と正に類同なことがM波にて観察されることは、神経筋間のシナプスにおいても脊髄シナプスと同様な、閾下縁と名づくべき現象の存在を考えしめるのである。これを考えるときH波の場合はその経路に脊髄シナプス、終板と云う2つの接続点を有するために終板での影響を考えなければならない。しかしH波の促通現象において終板の関与する程度を本実験法では確かめることはできないが、閾下の試験刺激に対するH波が形成されたことは脊髄シナプスにおいて促通が成立したことを意味する。したがって得られた成績は脊髄シナプスの促通をしめすと考えられる。たとえ終板における関与があったとしてもH波の促通曲線において、スパイク出現間隔範囲のうち少くとも長い方の一部分だけは脊髄シナプスの促通現象によるというのであろう。

1個の運動ニューロンよりの活動電位、またはシナプス後部電位 (PSP) を観察する時、求心性神経線維に加えられた刺激がいつも homosynaptic であるとはかぎらず¹³⁾¹⁹⁾、また PSP に変動がしばしば見られるのはシナプス小頭部の興奮への参加の状態が異なることに依るといわれ、このことはH波の動揺を説明づける1つの因子と考えても良いと思う。

本実験のH波の場合、実際には何本かの求心性神経線維を刺激興奮させ、これらが収斂した¹⁹⁾最終共通路に連なる1本の筋線維を興奮さ

せ、この活動電位を観察したことになる。又M波の場合やはり何本かの遠心性神経線維を興奮させ、その結果を筋線維のスパイクの形で観察して居り、M波興奮性回復曲線の補足実験²⁰⁾による多重支配の示唆等からして、これも1本の神経線維と1本の筋線維の連なりという極めて単純な形で解釈しようとするのは早計であると思われる。

次にM波興奮性回復曲線の第2抑圧について検討した。これまで針電極導出による筋のスパイクを示標として得られたM波の興奮性回復曲線においては第2抑圧が見られなかった⁸⁾¹⁰⁾²⁰⁾。この場合の刺激強度は前置、試験両刺激共に殆んど閾値に近い程度の閾上の強さであった。表面電極導出による健康成人例においても両刺激が閾値近くで等値の時には、興奮性回復曲線上で第2抑圧と見做される動揺が見られないか又は極めて少いこと²¹⁾からも前置、試験両刺激の強度が等値の場合、殊に刺激が閾値に極く近い閾上で等値の場合には第2抑制が出現し難いのではないかと考えられる。また実験成績よりわかる通り試験刺激強度を下げるという処置が第2抑圧を観察する為にはあまり有効ではなく、前置刺激の強度を高める事によってその効果が現われてくる。勿論刺激強度をどのようにに変化せしめても第2抑圧を観察しえない場合もあるが、第2抑圧は前置刺激の強度を強めることで現われるのであるから、それには興奮後の抑圧が強く生じている必要がある。そしてこの状態が生ずる為には神経と筋とが1対1の対応をとるものばかりでなく、1本の筋線維に複数の神経線維が連接するという機序が存在するのではないかと考えられる。既に S. W. Kuffler²²⁾²³⁾らの実験によって、カエルにおいては神経二重支配の存在が確認されており、また Denny-Brown の模式図 (Fulton¹⁶⁾による) にもその示唆が見られるが、人間については現在までその報告はない。本実験において得られた第2抑圧が終板部の興奮性変化に起因すると考えると、前置刺激によって広範囲にわたって完全なる抑圧を来し、試験刺激による反応の無効が強調

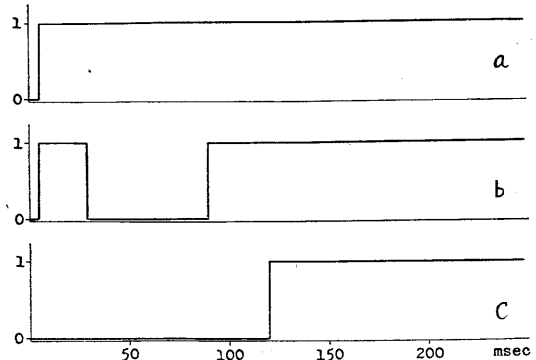


Fig. 15.

2nd depression in M wave and H wave transmissions.

a) M wave recovery curve without 2nd depression, b) the same as a) with appearance of 2nd depression and c) H wave recovery curve, all obtained by means of needle electrode.

された結果に他ならぬであろう。

一方前置刺激後における刺激電極下での神経の興奮性変化、特に神経間干渉も考えて見なければならぬ。即ち刺激電極下で隣接する神経間における電位の電気緊張の相互作用、殊に神経活動電位の次常期における相互作用が試験刺激に対する応答に抑圧としての影響を与えるかどうかという事である。B. Katz & O. H. Schmitt²⁴⁾によりカニの無髄神経摘出標本による実験報告がある。これによると先行して興奮した神経線維の活動電位によってそれに隣り合った神経線維に生ずる興奮閾値の上昇は最高10数%であるが、その影響の持続は僅か数 msec 以内である。本実験において問題となるのは数10 msec から 100 msec までの間隔における抑圧であるのでこのような神経興奮が次常期の相互作用によるものと考えすることは不可能である。

かくの如くしてこの第2抑圧の機序は終板部のシナプスについて考えなければならず、ここにおける興奮性の回復過程に由来するものと看做される。故にいま同様のシナプスたる脊髄運動ニューロンにおける伝達回復過程として、H波の第2抑圧と比較しよう。H波の第2抑圧は第14図aについても見られるが、第15図はM波、H波の第2抑圧の時間的關係をしめすものである。一般にH波における第2抑圧の終了がM波

のものより遅いことを常とするが、H波の第2抑圧のこの時間は数10例について、著者等の成績により別に報告されている⁶⁾。その成績によればH波の第2抑圧発現の期間は平均105 msec (70-140 msec) であって大体本成績に符合する。このH波、M波間の第2抑圧の期間の相違は先の閾下刺激に見られた閾下縁による促通の時間的相違と共に、H波抑圧の期間が長いことであって、H波反射弓の脊髄内シナプスと終板における伝達の一般的性質の相違を示すことに他ならない。

V. 総 括

人体におけるシナプスの興奮性回復過程を示すいわゆる回復曲線を単極針電極により運動単位活動を示標としてえがいた。

試験刺激を閾下として見られる促通現象では、前置および試験刺激の間隔がM波では 23-4 msec, H波では 33-5.5 msec の範囲内でのみスパイクが観察された。これは表面電極を用いて得られた興奮性回復曲線の第1促通と時間的に一致していて、その基礎をなすものであり、神経終板および脊髄内のシナプスにおける閾下縁による促通現象である。

M波興奮性回復曲線に見られた第2抑圧は単極針電極使用の場合には従来見られなかったが、前置刺激強度を高めるという系統的実験によりこれを現わす例をいくつか観察しえた。これによる第2抑圧は平均 29-89 msec の間隔に見られた。M波興奮性回復曲線にみる第2抑圧は終板伝達に由来し、H波のそれと対比して見ると、両者の間には第2抑圧の重複する部分があり、その部以外のH波興奮性回復曲線の第2抑圧は脊髄シナプスのみの興奮伝達抑圧の時間を示すものである。

本稿を終るにあたって御指導下さった鈴木教授および本間助教授の御二方に厚く御礼申し上げます。また御協力戴いた教室の方々に深謝致します。なお本研究は一部鈴木教授に対する文部省科学研究費によって支弁された。

文 献

1) Hoffmann, P. (1910) Beiträge zur Kenntnis der

- menschlichen Reflexe mit besondere Berücksichtigung der elektrischen Erscheinungen. Arch. Physiol., (Berl. & Leipz.) **1910**, 233
- 2) Magladery, J. W. & McDougal, D. B. (1950) Electrophysiological studies of nerve and reflex activity in normal man: 1) Identification of certain reflexes in the electromyogram and the conduction velocity of peripheral nerve fibers. Bulltin of Johns Hopkins Hospital, **86**, 265
- 3) Magladery, J. W. (1955) Some observations on Spinal Reflexes in Man. Pflügers Arch., **261**, 302
- 4) Paillard, J. (1955) Analyse électrophysiologique et comparaison chez l'homme, du réflexe de Hoffmann et du réflexe myotatique. Pflügers Arch., **260**, 448
- 5) 藤森聞一 (1956) 末梢神経刺激筋電法の原理とその臨床応用 日本医事新報 **1700**, 10
- 6) 本間三郎 (1959) 誘発筋電図の基礎とその応用 日本の医学の1959年 第15回日本医学会総会学術総会記録 **5**, 398
- 7) 本間三郎 (1957) 筋電図法によるクロナキシーの吟味 脳と神経 **9**, 594
- 8) 鈴木正夫・本間三郎 (1957) 電気刺激分析装置について 生体の科学 **8**, 162
- 9) 陶山脩夫・伊谷昭幸 (1957) 人体運動単位閾値測定について 日本生理誌 **19**, 693
- 10) 陶山脩夫 (1958) 運動単位活動電位法による神経 i-t 曲線及び伝達不応期について 低周波医学 **1**, 42
- 11) 時実利彦 (1952) 筋電図の臨床 東京 協同医書出版社
- 12) Katz, B. (1938) Experimental evidence for a non-conducted response of nerve to subthreshold stimulation. Proc. Roy. Soc. Lond., B. **124**, 224
- 13) Eccles, J. C. (1952) The Neurophysiological Basis of Mind. Oxford, The Clarendon Press.
- 14) Eccles, J. C. & O'conner, W. J. (1941) Abortive impulses at the neuromuscular Junction. J. Physiol., **100**, 318
- 15) Sherrington, C. S. (1929) Some functional problem, attaching to convergence. Proc. Roy. Soc. Lond., B. **104**, 332
- 16) Fulton, J. F. (1959) Physiology of the Nervous System. New York, Oxford university press.
- 17) 鈴木正夫・本間三郎 (1959) 人体の反射: 単シナプス反射を中心として, 興奮伝導の諸問題, 東京 医歯薬出版株式会社
- 18) 本間三郎・陶山脩夫・加濃正明 (1957) 人体脊髄反射活動に関する研究, 知見補遺 日本生理誌 **19**, 329
- 19) Eccles, J. C., Eccles, R. M. & Lundberg, A. (1957) The convergence of monosynaptic excitatory afferent on to many different species of α -motoneuron. J. Physiol., **137**, 22
- 20) 伊谷昭幸 (1959) 運動単位導出による終板伝達回復

- 曲線について 日本生理誌 **21**, 936
- 21) 志村昭光; 誘発筋電図法による人体神経筋伝達回復曲線とその臨床応用 (精神神経誌に掲載の予定)
- 22) Katz, B. & Kuffler, S. W. (1941) Multiple motor innervation of the frog sartorius muscle. *J. Neurophysiol.*, **4**, 209
- 23) Kuffler, S. W. (1942) Further study on transmission in an isolated nerve-muscle fiber preparation. *J. Neurophysiol.*, **5**, 309
- 24) Katz, B. & Schmitt, O. H. (1940) Electric interaction between two adjacent nerve fibers. *J. Physiol.*, **97**, 471

Summary

When the recovery curve (action spike height against shock intervals between conditioning and testing stimuli) of M-wave and also H-wave is obtained by observing the action potential of a single motor unit picked up by a monopolar needle electrode, the spike by the testing stimulus appears and disappears in all-or-none manner with a slight change in shock intervals, and the recovery curve presents a straight and rectangular form. In this curve one can find neither the so called first facilitation nor the supernormality after the recovery, which are observable in the ordinary recovery curve acquired by skin leading of the muscle action potential.

In order to pursue the facilitation phenomenon as a basis for the first facilitation in the skin-led recovery curve, the action spike was sought in the double shocks method with motor unit leading by using a subthreshold testing stimulus. The action potential as response to the subthreshold testing stimulus, facilitated by the conditioning one, subthreshold (M-wave in Fig. 1, 2; H-wave in Fig. 5, 6) as well as suprathreshold (M-wave in Fig. 3, 4; H-wave in Fig. 7, 8), appeared in the range of shock intervals of 4 to 23 msec for M-wave and 5.5 to 33 msec for H-wave (Table 1). These values seem to coincide with shock interval for the first facilitation in the ordinary recovery curve (Fig. 13, 14), and this facilitation of M-wave and H-wave transmission by subthreshold testing stimulus, observed in motor unit leading, must be thought as basal phenomenon for the first facilitation in the recovery curve in skin leading. And standing on this fact and also on that, that neither the first facilitation nor the supernormality appears in the recovery curve in motor unit leading, we can conclude that the first facilitation is caused by the subliminal fringe in the motoneuron pool in the spinal cord or some similar changes in the neuromuscular junction, which are formed by the conditioning stimulus.

The second depression, which is not observed ordinarily in the M-wave recovery curve in motor unit leading, can be brought in appearance when the conditioning stimulus is moderately intensified (Fig. 9, 10, 11, 12). The range of shock intervals for its appearance is 29 to 89 msec (Table 2). This result suggests probability of existence of multiple innervation of muscle fibers. In comparison with the second depression in the H-wave recovery curve, it is shorter in the interval range (Fig. 15), what can result from difference in transmission mechanism between spinal and endplate synapses.

(Department of Physiology, Chiba University School of Medicine)

プラスミン系の特異的阻 碍物質ならびにその

生理作用に関する研究 612.014.3-064

(第1報)メルカプトカルボン酸及びその誘導体

の抗プラスミン作用について

Studies on specific inhibitors to the plasmin system and their physiological action

I. The inhibitory effect of mercapto carboxylic acids and their derivatives

横 井 弥 毅 男 (YOKOI-Mikio)*

I. 緒 論

血液凝固に際して形成された線維素塊が、特定の条件の下で、細菌の汚染なしに、再び溶解して流動性を回復する現象は Green¹⁾, Dastre²⁾ によって記載され、Fibrinolysis (線維素溶解現象) と名づけられた。Nolf³⁾ は同様の現象が、ペプトンの静脈注射を受けたイヌの血液に見られることを報じた。

近年になって、手術後、ショック時、火傷、麻酔時、月経時、妊娠中毒症の時などに、血液の線維素溶解現象が著明に発現することが臨床的に認められ、確かめられた。更にこの現象の解析的研究が進み、線維素溶解現象は血漿中に存在する特殊の蛋白分解酵素の活性化によることが明らかになると共に、生理現象と本酵素の活性化との関係が重視されるようになった。

一方、これに続いて Christensen⁴⁾, MacFarlane⁵⁾, Ratnoff⁶⁾, Loomis⁷⁾ により、本酵素分屑が血清中より分離され、フィブリノリシンまたはプラスミンと名づけられた⁵⁾⁷⁾。また同時に、血清中には本酵素を阻碍する因子も存在しており、アンチフィブリノリシンまたはアンチプラスミンと名づけられた⁷⁾⁸⁾。また従来、β-溶連菌の産出する線維素溶解物質、すなわちフィブリノリシンとよばれていたものは、本酵素の強力な活性化物質であることが確かめられ、とくにストレプトキナーゼと名づけられた

のである。

なお、アナフィラキシー・ショックに際して、血漿中の蛋白分解酵素能が亢進することは、すでに1915年、Jobling ら⁹⁾ によって報告されていたが、近年になっては Ungar¹⁰⁾, Ungar & Mist¹¹⁾ により試験管内で抗原抗体反応にともなう、プラスミンに一過性の活性化が見られることが発見され、注目を惹いた。

また蛋白分解酵素による生体内蛋白質の分解過程に多くのショック物質¹²⁾¹³⁾、あるいは起炎症性物質¹⁴⁾¹⁵⁾ が出現すること、結核病巣¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾ およびアルチュス現象、シュワルツマン現象¹⁹⁾ にも蛋白分解酵素が密接に関連していることなどに基いて、蛋白分解酵素としてのプラスミン系の生理学的な重要性が示唆されるにいたったのである。

これらの事実から、プラスミン系の活性化を抑制すれば、前記の種々の病的症状を改善するという可能性が著者らによって、とくに強調された。事実また Smith ら²⁰⁾ は血清中のアンチプラスミン分屑を分離し、患者に投与することによって、妊娠中毒症を改善せしめ得たと報告している。

プラスミンとよばれる蛋白分解酵素は、血清β-グロブリン分屑中に存在するが、同様の作用因子は臓器組織内にも発見されている。この酵素の不活性な前段階物質はプラスミノーゲンとよばれている。一方、血清及び臓器組織内にはプラスミンに対する拮抗物質が存在し、アンチプラスミンと名づけられていることは前述の通

* 三菱化成研究所

〔昭和35年9月14日受付〕

りである。以上のプラスミン、プラスミノーゲン、アンチプラスミンの3者相互の関係は、脾臓のトリプシン、トリプシノーゲン、トリプシン抑制物質の3者の関係に類似している。プラスミンの基質は線維素のほか、線維素原、カゼイン、その他若干の蛋白質などであると一般に認められつつある。

著者はプラスミンの研究に着手するにあたって、他の蛋白分解酵素との混同を避けるため、まずカテプシン、パパイニン、トリプシンなどとプラスミン系の明確な異同を明らかにして、その分類学的な地位を確立しようと試み、若干の成績を得、ついでその実験過程において興味をひかれたメルカプトカルボン酸化合物のプラスミン系に及ぼす影響について研究したので、これを第1報として報告する。

Ⅱ. 実験材料及び実験方法

A) 実験材料

1) フィブリノーゲン液の調製²¹⁾ (Hammarstenの法)

成熟ウサギから心臓穿刺により採取した蓚酸血漿に5%の割合に食塩を投入溶解した後、血漿と同量の飽和食塩水を滴下し、生ずる沈澱を遠心分離し、上清をすて、沈澱に血漿と同量の等張食塩水を加えて溶解する。さらに、今一度同様の方法を繰り返したのち、適量の生理的食塩水を加え、0.2% 前後のフィブリノーゲン溶液を調整し、凍結保存し、用にのぞんで室温で融解後、基質として使用した。

2) トロンビン液の調製 (Eagleの法)

ヒトの乾燥血漿を冷蒸溜水で10倍に稀釈し、冷し乍ら炭酸ガスを15分乃至20分間通じる。この時に生じる沈澱を遠心分離し、沈澱を血漿と同量の等張食塩水に溶解した後、重曹を添加して pH 7.6 に補正する。これに2% 塩化カルシウムを血漿の1/10容添加し、充分攪拌した後、37°C に温め乍ら析出してくる線維素をガラス棒で取り除き、一夜氷室に保存した後、遠心分離し、上清をトロンビン液として用いる。このトロンビン液中には、若干のプラスミノーゲンが

混在している。

3) プラスミン分層

まずヒトまたはウマの新鮮血漿を蒸溜水で10倍に稀釈し、酢酸で pH 5.2 に調製する。遠心沈澱後、上清をすて沈澱を原血漿の1/2量の1/30モル磷酸緩衝液加 0.9% 食塩水に溶解させる。これに2% 塩化カルシウム1/10量を加え、37°C で30分保温し、生ずる線維素塊を取り除く。ついで同量のクロロホルムを加え、20分乃至30分間激しく振盪した後、25°C で18時間保温する。かくしてクロロホルムから分離した蛋白液をプラスミン酵素液として使用する。

4) 被験化学物質

数種のものを除き、試験に供した化学物質は、すべて三菱化成研究所で合成したものを使用した。

B) 実験方法

抗プラスミン作用被験物質を生理的食塩水で種々のモル濃度に倍数稀釈した溶液 0.2 ml を各試験管にとり、対照としては生理的食塩水 0.2 ml をとる。更に各試験管に夫々 pH 7.0 の1/20モル磷酸緩衝液 0.5 ml、ヒト・トロンビン液 0.1 ml、プラスミン酵素液 0.1 ml を添加、よく振盪し、37-38°C の恒温槽内に5分間放置する。次いで、フィブリノーゲン液 (約 0.2% のもの) 0.1 ml を各々に滴下し、全量を 1 ml とし、手速く振盪すれば、各試験管には30秒以内に倒立するも流出を認めない程度の線維素凝塊を生ずる。これを 37-38°C の恒温槽中に再び入れ、各試験管内に起る線維素溶解現象の所要時間 (線維素凝塊が完全に溶解し去るまでの時間) を測定する。

被験物質がプラスミン系の作用を阻碍する場合には、その線維素溶解に要する時間は、対照試験管よりも延長が認められる筈である。

また被験物質がプラスミン系の作用を阻碍せず、反対に活性化する場合には、その線維素溶解に要する時間は、対照試験管よりも早い筈である。

本論文においては、明らかに線維素溶解時間の延長をおこし得る化学物質の最小モル濃度を

抗プラスミン力価として、表示することとした。

Ⅲ. 実験成績

前記の実験材料、実験方法を用いて多数のメルカプトカルボン酸及びその誘導体のプラスミン系に対する影響を調べた成績は下記の如くである。

A. 脂肪族メルカプトカルボン酸化合物のプラスミン系に対する影響

Table 1 及び 2 に示したように、脂肪族メルカプトカルボン酸化合物では、COOH 基に対して SH 基が α 位に位置している化合物は、プラスミン系に対して、作用は全く認められないが、COOH 基に対して SH 基が β 位に位置して

いる化合物はプラスミン系の作用を阻碍する。

すなわち、 α -メルカプトカルボン酸化合物はプラスミン系に対し作用を示さないが、 β -メルカプトカルボン酸化合物はプラスミン系の作用を阻碍することが注目された。

B. 芳香族メルカプトカルボン酸化合物のプラスミン系に対する影響

脂肪族メルカプトカルボン酸化合物と同様の試験を、芳香族メルカプトカルボン酸化合物について行なった結果の成績は Table 3, 4, 5 のごとくである。すなわち、芳香族メルカプトカルボン酸化合物では、ベンゼン核に結合する COOH 基と SH 基との位置の関係により、プラ

Table 1.

The effects of aliphatic α -mercapto carboxylic acids and their derivatives on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
Thioglycolic acid	SH CH ₂ •COOH	$>10^{-2} \text{ mol}$
Acetylthioglycolic acid	S•COCH ₃ CH ₂ •COOH	$>10^{-2} \text{ mol}$
Carbamylthioglycolic acid	S•CONH ₂ CH ₂ •COOH	$>10^{-2} \text{ mol}$

Table 2.

The effects of aliphatic β -mercapto carboxylic acids and their derivatives on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
β -Mercapto propionic acid	CH ₂ -SH CH ₂ •COOH	10^{-2} mol
β -Acetyl-thio-propionic acid	CH ₃ •S•COCH ₃ CH ₂ •COOH	$5 \times 10^{-3} \text{ mol}$
Cystine	CH ₂ -SH CH-COOH NH ₂	10^{-2} mol
Cystine	CH ₂ -S-S-CH ₂ CHNH CHNH COOH COOH	$4 \times 10^{-3} \text{ mol}$
dl-Thiomalic acid (Mercapto succinic acid)	COOH CH•SH CH ₂ •COOH	10^{-2} mol

Table 3.

The effects of aromatic p-mercapto carboxylic acids and their derivatives on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
p-Mercapto benzoic acid	COOH  SH	$>4 \times 10^{-3} \text{ mol}$
p-Acetyl-thio-benzoic acid	COOH  S•COCH ₃	$>4 \times 10^{-3} \text{ mol}$
p•p'-Dicarboxy-Diphenyl disulfide	HOOC-  -S-S-  -COOH	$>4 \times 10^{-3} \text{ mol}$

Table 4.

The effects of aromatic m-mercapto carboxylic acids and their derivatives on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
m-Mercapto benzoic acid	COOH  SH	$4 \times 10^{-3} \text{ mol}$
m-Acetyl-thio-benzoic acid	COOH  S•COCH ₃	$4 \times 10^{-3} \text{ mol}$
m•m'-Dicarboxy-Diphenyl disulfide	COOH COOH  -S-S- 	$4 \times 10^{-3} \text{ mol}$

スミン系に対する作用が明らかに異なってくる。すなわち, *para* 位の化合物はプラスミン系に対して, 作用は全く認められないが, *meta* 位の化合物は明らかに阻碍的に働き, *ortho* 位の化合物では抗プラスミン作用が最も強くみとめられる。一般的に芳香族メルカプトカルボン酸化合物では, *ortho* 化合物 > *meta* 化合物 > *para* 化合物の順序に抗プラスミン作用があると云える。このことは, PAS の研究過程における, アミノオキシ安息香酸の活性基の位置による抗菌力の強弱とよく似た傾向を示したものであり, 興味深い。

C) その他の類縁化合物のプラスミン系に対する影響

Table 6 に見られるように, ベンゼン核に直接アミノ基が導入されたメルカプトカルボン酸化合物及びカルボン酸化合物はプラスミン系の作用を賦活する傾向があり, 今後の研究発展に1つの指標を与えるものと思われ, 注目に値する。

IV. 考 察

すでに, 著者らの研究によって, プラスミン系とよばれる蛋白分解酵素の特徴が検討され, カテプシン系, パパイン系と対蹠的な一面が示されていた²²⁾。すなわち,

1) KCN, H₂S の如き, カテプシン, パパイン系活性化物質はプラスミン系の作用を逆に抑制する。

2) H₂O₂ の如きカテプシン, パパイン系阻碍物質はプラスミン系の作用を明瞭に活性化する。

3) 更に興味深いことには, プラスミン系は試験管の反応液の上層にトルオール・流動パラフィンを重ねるだけで, その作用を可逆的に失う。勿論, 試験管を閉鎖し, 低圧 (10-20 mmHg) にする時には, 酵素の作用はやはり可逆的に停止する。一方, 著者の研究によって, α -メルカプトカルボン酸と β -メルカプトカルボン酸のプラスミン系に対する作用が明らかにされた。

Table 5.
The effects of aromatic o-mercapto carboxylic acids and their derivatives on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
Thiosalicylic acid (o-Mercapto benzoic acid)		$2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
Thioaspirine (S-acetyl thiosalicylic acid)		$2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
Dithiosalicylic acid		$2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
S-S'-succinyl-bis-thiosalicylic acid		10^{-3} mol
S-propionyl-thiosalicylic acid		$2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
S-isovaleryl-thiosalicylic acid		$2 \times 10^{-3} \text{ mol}$

Table 6.
The effects of some chemical compounds on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	effect
2-Mercapto-4-amino-benzoic acid		activation with $4 \times 10^{-3} \text{ mol}$
Anthranilic acid (o-amino-benzoic acid)		activation with 10^{-2} mol
Nicotinic acid		activation with $5 \times 10^{-3} \text{ mol}$
Novocaine		activation with 10^{-2} mol

Table 7.
The difference among plasmin, cathepsin and papain by means of the action of some chemical compounds.

Chemical compounds	Plasmin	Cathepsin	Papain
Potassium cyanide	inhibition	activation	activation
Hydrogen disulfide	inhibition	activation	activation
Hydrogen peroxide	activation	inhibition	inhibition
α -Mercapto carboxylic acid	indifference	inhibition	activation
β -Mercapto carboxylic acid	inhibition	activation	activation

これらの成績を要約し、Maschman²³⁾の成績と併せて表示すると、Table 7 のようになる。

すなわち、プラスミンはカテプシン、パパインと明らかに区別される蛋白分解酵素であり、トリプシンと類似しているが、 β -メルカプトカルボン酸、硫化水素により阻害的に敏感に働くばかりでなく、終末産物がペプチッドであり、この点からも明らかにトリプシンとも異なるものである。

V. 結 論

1) チオグリコール酸のような脂肪族の α -メルカプトカルボン酸化合物は、プラスミン系による線維素溶解現象に対し阻害作用も、活性化作用も持たない。これに反し、 β -メルカプトプロピオン酸のような脂肪族の β -メルカプトカルボン酸化合物は、プラスミン系の作用に対し阻害的に働く。

2) 芳香族メルカプトカルボン酸化合物のうちでは、チオサリチル酸のような ortho 化合物がもっとも抗プラスミン作用が強く、m-メルカプト安息香酸のような meta 化合物では、抗プラスミン作用は前者よりも弱い。さらに p-メルカプト安息香酸のような para 化合物では、殆んど抗プラスミン作用を持たない。

3) メルカプトカルボン酸化合物のうちでは、最も強いプラスミン阻害物質は S-S'-succinyl-bis-thiosalicylic acid であった。

4) ベンゼン核に直接アミノ基が置換された芳香族カルボン酸化合物は、プラスミン系の作用に対し賦活的に働く傾向が見られる。

執筆するにあたり、終始御指導、御校閲を頂いた岡本彰祐教授に深甚なる謝意を表するとともに、熱心なる御指導、御鞭撻を賜った三菱化成研究所長、長沢不二男博士、同研究室長高木鋭一博士に衷心より感謝の意を表し、種々御協力を与えられた塚田裕三教授、研究所員佐藤正常氏に深謝する。尚、林 麟教授、須田勇教授、宮木高明教授、牛場大蔵教授から与えられた御示唆に対し謝意を表明する。

文 献

- 1) Green, J. R. (1887) J. Physiol. **8**, 372
- 2) Dastre, A. (1894) Arch. de. Physiol. norm et path. **6**, 464
- 3) Nolf, P. (1905) Arch. internat. de. Physiol. **3**, 1
- 4) Christensen, L. R. & C. M. Macleod (1946) J. Gen. Physiol. **28**, 559
- 5) Macfarlane, R. G. & R. Biggs (1948) Blood **3**, 1167
- 6) Ratnoff, O. D. (1948) J. Exp. Med. **88**, 401
- 7) Loomis, E. C., C. George & A. Ryder (1947) Arch. Biochem. **12**, 1
- 8) Loomis, E. C., A. Ryder & C. George (1949) Arch. Biochem. **20**, 444
- 9) Jobling, J. W., W. Peterson & A. A. Eggstein (1915) J. Exp. Med. **22**, 401
- 10) Ungar, G. (1947) Lancet **1**, 708
- 11) Ungar, G. & S. H. Mist (1949) J. Exp. Med. **90**, 39
- 12) Beraldo, W. T. (1950) Am. J. Physiol. **163**, 283
- 13) Rocha e Silva, M. & A. Grana (1946) Arch. Surg. **52**, 713
- 14) Duthie, E. S. & E. Chain (1939) Brit. J. Exp. Path. **20**, 417
- 15) Spector, W. G. (1951) J. Path. & Bact. IXiii, 93
- 16) Jobling, J. W. & W. Peterson (1914) J. Exp. Med. **19**, 383
- 17) Roseman, M. (1920) Biochem. Zt. **112**, 98
- 18) Weiss, C. & J. Schultz (1949) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **72**, 236
- 19) Stetson, C. A. (1951) J. Exp. Med. **93**, 489
- 20) Smith, O. W. & G. V. Smith (1945) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **59**, 119 ; (1947) Am. J. Obst. Gynecology **54**, 212
- 21) Hammarsten, O. (1896) Z. Physiol. Chem. **22**, 333
- 22) Okamoto, S. et al. (1951) 慶応医学 **28**, 295
- 23) Maschmann, E. & H. Z. Erica (1933) Physiol. Chem. **222**, 207

Summary

1) Aliphatic alpha-mercapto-carboxylic acids such as thioglycolic acid had neither inhibition nor activation on the fibrinolysis caused with the plasmin system, while aliphatic beta-mercapto-carboxylic acids such as beta-mercapto-propionic acid exerted inhibitory effect on the fibrinolysis with the plasmin system.

2) Of aromatic mercapto-carboxylic acids, ortho compounds such as thiosalicylic acid had the strongest inhibitory effect on the fibrinolysis, meta-compounds such as m-mercapto benzoic acid had weaker effect than ortho compounds, and para compounds such as p-mercapto-benzoic acid had hardly any action.

3) Of mercapto-carboxylic acids, the most effective inhibitory substance on the fibrinolysis was s.s'-succinyl-bis-thiosalicylic acid.

4) Aromatic carboxylic acid of which hydrogen of the benzene nucleus was directly replaced by amino group generally had tendency to activate the action of plasmin system.

(Central Research Laboratory, Mitsubishi Chemical Industries Limited, Kawasaki)

プラスミン系の特異的阻 碍物質ならびにその

生理作用に関する研究 612.014.3-064

(第2報) アミノ酸及びその誘導体の抗プラスミン作用について

Studies on specific inhibitors to the plasmin system and their physiological action

II. The inhibitory effect of amino acids and their derivatives

横 井 弥 毅 男 (Yokoi-Mikio)*

I. 緒 論

著者はすでに、メルカプトカルボン酸の抗プラスミン作用を検討し、脂肪族 α -メルカプトカルボン酸には抗プラスミン作用がなく、脂肪族 β -メルカプトカルボン酸に抗プラスミン作用が存在することを見出した¹⁾。

著者はまた、芳香族メルカプトカルボン酸の抗プラスミン作用は、一般に脂肪族 β -メルカプトカルボン酸よりも強く、とくにS·S'-succinyl-bis-thiosalicylic acid が最も強い抗プラスミン作用をもつことを見出した¹⁾。

しかし乍ら、これらの物質の抗プラスミン作用は、 10^{-2} mol 乃至 10^{-3} mol 程度の濃度においてのみ、漸く証明し得る程度にとどまった。

その上、メルカプト化合物は不安定であり、毒性も少なくなく、in vivo の実験に応用するには、不満足な抗プラスミン物質とみなされた。

一方、第1報の諸成績は、一連の化学物質のもつ抗プラスミン作用の強度が、化学構造上の特徴と密接に関係あることを示した。

ここにおいて、著者は他の系列の化学物質について、その構造と抗プラスミン作用との関係を検討したが、アミノ酸及びその誘導体の研究中に、とくに興味ある成績を得たので、ここに報告する。

II. 実験材料及び実験方法

実験材料及び実験方法は第1報のそれに準じた。

* 三菱化成研究所

[昭和35年9月14日受付]

III. 実験成績

A. 天然アミノ酸の抗プラスミン作用

天然の α -アミノ酸のうち、入手し得た25種類のアミノ酸につき、前記の実験方法に従い、抗プラスミン作用を試験した成績は Table 1 の通りであった。すなわち、モノアミノ・デカルボン酸に属するアスパラギン酸、グルタミン酸では、抗プラスミン作用はなく、むしろプラスミン作用を活性化する傾向が見られた。これに反して、デアミノ・モノカルボン酸あるいはそれと類似構造をもつ塩基性アミノ酸に属するアルギニン、アスパラギン、リジン、ヒスチジン、トリプトファン、の5物質では、抗プラスミン作用が強いことが明らかになった。ことにリジンは 7×10^{-5} mol と云う低濃度において、尚且つ抗プラスミン作用をもち、他の天然アミノ酸に比較して、抗プラスミン作用が非常に強い。すなわち、一般に天然の酸性アミノ酸はプラスミン作用に対して賦活的に働く傾向があり、塩基性の天然アミノ酸はプラスミン作用に対して阻 碍的に働く傾向が認められた。

B. リジンの異性体及び2種の塩酸塩の抗プラスミン作用

リジンの強力な抗プラスミン作用は、その何れの光学の種類のものが強いかを検討した。

またリジンは塩基性の強いアミノ酸であるから、その塩基度が抗プラスミン作用に如何に影響しているかと云うことも考えられたので、リジンの一塩酸塩、二塩酸塩についても併せ試験した。その成績は Table 2 の通りであり、*d*, *l*, *dl*, 2種の塩基塩は抗プラスミン作用に対し

Table 1.

The effects of natural amino acids on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
Glycine	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	(slight activation)
L- α -alanine	$\text{CH}_3\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	(slight activation)
L- α -amino-n-butylic acid	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-valine	$\text{CH}_3\text{>CH(NH}_2\text{)-CH}_2\text{-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-nor-valine	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-leucine	$\text{CH}_3\text{>CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-nor-leucine	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-isoleucine	$\text{CH}_3\text{>CH(C}_2\text{H}_5\text{)-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-serine	$\text{HO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>10^{-2} \text{ mol}$
L-threonine	$\text{CH}_3\text{-CH(OH)-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>10^{-2} \text{ mol}$
L-aspartic acid	$\text{HOOC-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	(activation)
L-asparagine	$\text{H}_2\text{N-CO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-glutamic acid	$\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	(activation)
L-phenyl-alanine	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	(slight activation)
L-tyrosine	$\text{HO-C}_6\text{H}_4\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	(slight activation)
L-cysteine	$\text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	10^{-2} mol
L-cystine	$\text{S-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$ $\text{S-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$4 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-methionine	$\text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$

L-lysine	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$7 \times 10^{-5} \text{ mol}$
L-arginine	$\text{HN} \text{>C(NH}_2\text{)-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-proline	$\text{H}_2\text{C-CH}_2\text{-CH(NH-CH}_2\text{-COOH)-COOH}$	$>2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
Hydroxy-L-proline	$\text{HO-CH-CH}_2\text{-CH(NH-CH}_2\text{-COOH)-COOH}$	(slight activation)
L-histidine	$\text{HC=N-NH-C(NH}_2\text{)=CH-COOH}$	$2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L-tryptophan	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$2 \times 10^{-3} \text{ mol}$
L- α , ϵ -diamino-pimelic acid	$\text{HOOC-CH(NH}_2\text{)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$5 \times 10^{-3} \text{ mol}$

Table 2.

The inhibitory effects of lysine isomers and its related compounds on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
dl-Lysine	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$7 \times 10^{-5} \text{ mol}$
l-Lysine	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$7 \times 10^{-5} \text{ mol}$
d-Lysine	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	$7 \times 10^{-5} \text{ mol}$
Lysine-monohydrochloride	$(\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}) \cdot \text{HCl}$	$7 \times 10^{-5} \text{ mol}$
Lysine-dihydrochloride	$(\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}) \cdot 2\text{HCl}$	$7 \times 10^{-5} \text{ mol}$

て、相互に有意の差があるとは認められなかった。

C) リジン誘導体の抗プラスミン作用

リジンのもつ強力な抗プラスミン作用を解析するために、まずリジン構造式の基本型とも云うべき *n*-カプロン酸を試験したが、この物質には全く抗プラスミン作用が発見されなかった。ついで、リジン構造式のアミノ基に注目した。すなわち、 α 位と ϵ 位との何れのアミノ基が、リジンの抗プラスミン作用に関係しているかを調べたのが Table 3 である。

すなわち、 α 位にアミノ基1ケをもつ α -アミノ-*n*-カプロン酸 (ノールロイシン) では、リジンに較べ抗プラスミン作用は非常に弱かったが、 ϵ 位にアミノ基1ケをもつ化合物では、 10^{-5} mol と云う低濃度において、尙抗プラスミン作用を示した。次に α 位と δ 位とに、アミノ基2ケをもつ α, δ -ジアミノ-*n*-カプロン酸を試験したが、抗プラスミン作用は ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸よりも弱いことが認められた。

以上の成績より、アミノ-*n*-カプロン酸では、アミノ基が ω の位置に結合していることが、抗プラスミン作用を強めるために、もっとも有効であることを知った。

D) ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸誘導体の抗プラスミン作用

次に、 ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸の誘導体について、さらに研究をすすめた。

1) カルボキシル基について

カルボキシル基と抗プラスミン作用との関係を調べる為に ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸の COOH 基を種々変形したもの、すなわち脱炭酸した形のアミン、脱水した形のラクタム、あるいは酸エステル、酸アマイド、酸ヒドラチッドおよび COOH 基をスルホン酸で変えたものについて試験した。その成績は Table 4 の通りで、カルボキシル基を変形したものでは、何れも抗プラスミン作用が減少した。

2) アミノ基について

ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸のアミノ基をアルキルアミノ基、アシルアミノ基及びその他の基で

Table 3.

The inhibitory effects of lysine and its related compounds on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
α, ϵ -diamino- <i>n</i> -caproic acid	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	7×10^{-5} mol
<i>n</i> -caproic acid	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	10^{-2} mol
α -amino- <i>n</i> -caproic acid	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	4×10^{-3} mol
ϵ -amino- <i>n</i> -caproic acid	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	10^{-5} mol
α, δ -diamino- <i>n</i> -caproic acid	$\text{CH}_3\text{-CH(NH}_2\text{)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	2×10^{-3} mol

Table 4.

The inhibitory effects of ϵ -amino-*n*-caproic acid and its related compounds on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
ϵ -amino- <i>n</i> -caproic acid	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	10^{-5} mol
<i>n</i> -amyl-amine	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	5×10^{-4} mol
ϵ -caprolactam	$\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$	10^{-2} mol
ϵ -amino- <i>n</i> -caproyl-ethylester	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOC}_2\text{H}_5$	5×10^{-4} mol
ϵ -amino- <i>n</i> -caproyl-amide	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CONH}_2$	10^{-4} mol
ϵ -amino- <i>n</i> -caproyl-hydrazide	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CONHNH}_2$	5×10^{-5} mol
ϵ -amino- <i>n</i> -pentane-sulfonic acid	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SO}_3\text{H}$	7×10^{-5} mol

置換した場合の成績は Table 5 の通りであった。すなわち、アルキルアミノ基で置換した場合は、抗プラスミン作用が漸減し、アシルアミノ基で置換した場合は、抗プラスミン作用は殆んど消失した。

E) ω -アミノ酸におけるメチレン基数と抗プ

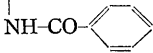
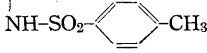
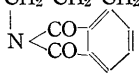
ラスミン作用との関係

ω -アミノ酸の ω -NH₂ 基と COOH 基との間に介在する CH₂ 基数と抗プラスミン作用との関係を検討するために, CH₂ 基 1 ケから 8 ケまでの ω -アミノ酸 (グリシンを含む) について, その抗プラスミン作用を試験した. 成績は Table 6 の通りである. これを要約すれば, 抗プラスミン作用の強弱は, (CH₂)₅ > (CH₂)₄ > (CH₂)₆ > (CH₂)₃ > (CH₂)₇ > (CH₂)₂ > (CH₂)₈ > (CH₂)₁ の順序となる.

換言すれば, CH₂ 基数では 1 < 2 < 3 < 4 < 5 > 6 > 7 > 8 のようになり, CH₂ 基数 5 ケのものがもっとも抗プラスミン作用が強く, これを中心として, CH₂ 基数が少くなる程,又多くなる程,規則正しく抗プラスミン作用が減弱し

Table 5.

The inhibitory effects of ϵ -amino-n-caproic acid and its related compounds on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
ϵ -amino-n-caproic acid	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH NH ₂	10 ⁻⁵ mol
ϵ -methylamino-n-caproic acid	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH NHCH ₃	2 × 10 ⁻⁵ mol
ϵ -dimethyl-amino-n-caproic acid	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH N(CH ₃) ₂	4 × 10 ⁻⁵ mol
ϵ -acetyl-amino-n-caproic acid	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH NH-COCH ₃	10 ⁻² mol
ϵ -benzoyl-amino-n-caproic acid	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH NH-CO- 	> 5 × 10 ⁻³ mol
ϵ -(p-toluy-sulfon amino)-n-caproic acid	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH NH-SO ₂ - 	> 5 × 10 ⁻³ mol
ϵ -Phthalimino-n-caproic acid	CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH N- 	> 10 ⁻² mol
δ -Carboxy-valeramidine	NH NH ₂ C=CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH	2 × 10 ⁻⁴ mol

た. これをトランス-トランス結合の状態における原子間距離で表示すると, COOH 基の炭素と ω -NH₂ 基の窒素との間の距離が 7.0 Å の長さのものが, もっとも抗プラスミン作用が強いことになる.

F) ω -アミノ基とカルボキシル基との間に CH₂ 基以外の他の基の介在する化合物の抗プラスミン作用

ϵ -アミノ-n-カプロン酸におけるアミノ基とカルボキシル基との間の原子間距離 (トランス-トランス結合の状態における) と殆んど同じ程度の長さの化合物であれば, 抗プラスミン作用は強力であろうとの推論のもとに, 窒素, 酸素を含む基を介在する化合物の試験を行なった結

Table 6.

The inhibitory effects of W-amino acids on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
Glycine	NH ₂ CH ₂ COOH	(Slight activation)
β -alanine	NH ₂ (CH ₂) ₂ COOH	10 ⁻² mol
γ -amino-butylic acid	NH ₂ (CH ₂) ₃ COOH	2.5 × 10 ⁻⁴ mol
δ -amino-n-valeric acid	NH ₂ (CH ₂) ₄ COOH	5 × 10 ⁻⁵ mol
ϵ -amino-n-caproic acid	NH ₂ (CH ₂) ₅ COOH	10 ⁻⁵ mol
ζ -amino-n-oenanthic acid	NH ₂ (CH ₂) ₆ COOH	10 ⁻⁴ mol
η -amino-n-caprylic acid	NH ₂ (CH ₂) ₇ COOH	3.3 × 10 ⁻⁴ mol
θ -amino-n-pelargonic acid	NH ₂ (CH ₂) ₈ COOH	> 10 ⁻² mol

Table 7.

The inhibitory effects of the homologues of epsilon-amino-n-caproic acid on the activity of plasmin system.

Compound	Formula	Minimum inhibitory concentration
γ -ureido-butyric acid	NH ₂ -CO-NH-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH	> 2 × 10 ⁻² mol
γ -guanidino-butylic acid	NH NH ₂ C=NH-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -COOH	2 × 10 ⁻³ mol
β -alanyl-glycine	NH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CO-NH-CH ₂ -COOH	10 ⁻³ -5 × 10 ⁻⁴ mol

果は、Table 7 の通りである。すなわち、原子間距離は殆んど同程度の長さのものでも、 CH_2 基のかわりに窒素、酸素を含む基の介在する場合は、抗プラスミン作用は著しく減弱した。

IV. 考 察

著者は第1報において、メルカプトカルボン酸及びその誘導体の抗プラスミン作用を検討したが、著者の初期の目的からみて、十分に強力なプラスミン阻碍物質は得られなかった。しかし乍ら、各種の天然アミノ酸の抗プラスミン作用を検討した段階において、リジンがとくに強い阻碍作用をもつことが見出された。著者はついで、リジンの光学異性体ならびに2種の塩酸塩の抗プラスミン作用を検討したが、抗プラスミン作用には有意の差が存在しないことが明らかにされた。つづいて、リジン誘導体の抗プラスミン作用の検討に移り、まずその基本形とも云うべき *n*-カプロン酸を試験した結果、抗プラスミン作用が全く存在しないことが明らかになった。そこで、次にアミノ基に注目し、リジンの α 位のアミノ基と ϵ 位のアミノ基の何れがリジンの抗プラスミン作用を荷なうものであるかについて研究を進めた。この結果、意義ある知見を得た。すなわち、 α 位のアミノ基のみをもつノールロイシンは、リジンに較べ抗プラスミン作用は非常に弱い、 ϵ 位にのみ1ケのアミノ基をもつものは、 10^{-5} mol と云う低濃度で抗プラスミン作用を示す強力なものであった。

すなわち、リジンの α 位のアミノ基は、その抗プラスミン作用をむしろ低下させる作用をもつことが示唆された。

更に進んで、カルボキシル基又は ω -アミノ基に、種々の他の基を導入置換した化合物について、その抗プラスミン作用を検討した。その結果は、カルボキシル基及び ϵ 位のアミノ基そのものが、強い抗プラスミン作用を ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸がもつ上に必要であって、これらの基の化学的置換は抗プラスミン作用を著しく減弱させることが明らかになった。

最後にカルボキシル基と ω -アミノ基との間

のメチレン基数の相違が抗プラスミン作用に、どのような影響を与えるかが検討された。

この結果、メチレン基数5ケの ω -アミノ酸が抗プラスミン作用最も強く、メチレン基数が4, 3, 2, 1と減少するに従って、その順序に抗プラスミン作用は減弱した。またメチレン基数が6, 7, 8と増大するにつれて、その順序に抗プラスミン作用の減弱がみられた。すなわち、これらの ω -アミノ酸のうちで、トランス-トランス結合の状態で計算して、カルボキシル基の炭素と ω -アミノ基の窒素との間の距離が7.0 Å前後のものが最も強い抗プラスミン作用をもつものと理解された。しかし乍ら、 ϵ 位にアミノ基をもつ ω -アミノ酸のメチレン基をペプチッド結合のような他の基で置換した場合には、抗プラスミン作用は著しく減弱した。

上述の多面的な検討に基づき ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸はアミノ酸及び関連化合物のうちで、もっとも強力な抗プラスミン作用をもつ物質の一型であることが結論された。

他方今日まで、強力な抗プラスミン作用をもつ合成物質の追求は、内外を問わず、殆んど行なわれていなかった。 ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸の強力な抗プラスミン作用は、この意味において、とくに注目し値するものと思われる。したがって、この物質を用い、生体内のプラスミン系を抑制すると云う新しい研究が可能であろうと云う見透しのもとに、著者は第3報において、 ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸の毒性試験を行ない、さらにプラスミンが活性化されるものと見做されている若干のアレルギー現象などに対して、 ϵ -アミノ-*n*-カプロン酸の効果を検討することとした。

V. 結 論

アミノ酸とくに ω -アミノ酸ならびにその誘導体の化学構造と抗プラスミン作用との関係について研究した。その結果、著者の研究したアミノ酸およびその関連化合物の範囲内においては、蛋白分解酵素プラスミンに対し強力に拮抗する物質は、化学構造上、次の3条件をみたす

ものであることが確認された。

1) 化合物の中にカルボキシル基が存在し、而かもそのカルボキシル基は他の基で置換されることなく、その儘の形で存在すること。

2) 化合物の中にアミノ基が存在し、而かもそのアミノ基は他の基で置換されることなく、その儘の形で存在すること。

3) カルボキシル基と ω -アミノ基との間のメチレン基の数は5ケのものが、もっとも抗プラスミン作用強く、メチレン基数の増減にしたがって、抗プラスミン作用は何れも漸減すること。

ϵ -アミノ-n-カプロン酸はもっとも強い抗プ

ラスミン物質であることが著者によって見出された。そして上記の3条件を満足させるものであった。それはヒト血液中のプラスミンを 10^{-5} mol 稀釈濃度で阻碍するものであった。

擧筆するにあたり、終始御指導、御校閲を頂いた岡本彰祐教授に深甚なる謝意を表するとともに、熱心なる御指導、御鞭撻を賜った三菱化成研究所長、長沢不二男博士、同研究室長高木鋭一博士に衷心より感謝の意を表し、種々御協力を与えられた塚田裕三教授、研究所員万行光男氏に深謝する。尚、林 麟教授、須田勇教授、宮木高明教授、牛場大蔵教授から与えられた御示唆に対し謝意を表明する。

文 献

- 1) 横井弥毅男(1960)日本生理誌 **22**, 1098

Summary

The relation of the chemical structure of amino acids and their derivatives to the inhibitory effect upon the fibrinolysis was investigated and it was known that the potent inhibitors synthesized satisfy the following items.

1) The presence of a carboxylic group in the compound: It could not be exchanged by other radicals without diminishing the original inhibitory action.

2) The presence of an amino group in the compound: It could not be exchanged by other radicals without diminishing the original inhibitory action.

3) Five methylen groups were found between carboxylic group and amino group in the case of the strongest inhibitory substance of omega amino acid.

Thus, it was confirmed that Epsilon-amino-n-caproic acid was the most effective inhibitory substance so far as examined, indicating the inhibition upon the plasmin activity with such dilution as 10^{-5} mol.

(Central Research Laboratory, Mitsubishi Chemical Industries Limited, Kawasaki)

プラスミン系の特異的阻 碍物質ならびにその

生理作用に関する研究 612.014.3-064

(第3報) ϵ -アミノ-n-カプロン酸の毒性試験ならびに

若干のアレルギー現象に及ぼす影響

Studies on specific inhibitors to the plasmin system and their physiological action

III. Some biological actions of ϵ -amino-n-caproic acid to the animals

横 井 弥 毅 男 (YOKOI-Mikio)*

I. 緒 論

抗原抗体反応にともなう、アナフィラキシーまたはアレルギーの生起する機作は、古くから諸々の討論の対象となってきた。そのうちで、著者がとくに注意を払ったのは、アナフィラキシーに対するいわゆるプラスミン学説であった¹⁾²⁾。すなわち、抗原抗体反応が生体内で生起するとき、血漿中のプラスミンが高度に賦活され、蛋白質の分解が急激に進行し³⁾、ヒスタミン類似の作用をもつポリペプチドが放出され、病因の1つになるという考えである。しかしこの学説がどの程度まで正しいかという問題は未解決のまま残されていた。

著者は、強力で副作用の少ない抗プラスミン物質を発見することができれば、このプラスミン学説の成否を実験的に追究できる筈であると考えて、抗プラスミン物質を系統的に研究し、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸を得た⁴⁾。

著者がこの物質を発見した当時は、この物質の生理作用についての報告は少なく、僅かに Watanabe ら⁵⁾が ϵ -アミノ-n-カプロン酸のカルシウム塩に強心利尿作用があるという報告をみるのみであった。もちろん、その毒性については不明であった。

そこで著者は、まず ϵ -アミノ-n-カプロン酸についての種々の毒性試験を行ない、その毒性が非常に低いことを知ったので、プラスミン活

性が原因の1つとして働く可能性がある若干のアレルギー現象にたいして、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸の作用を検討し、若干の成績を得たので、ここに報告する。

II. 実験材料及び実験方法

使用した ϵ -アミノ-n-カプロン酸は三菱化成研究所において、合成したものをを用いた。 ϵ -アミノ-n-カプロン酸は $\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$ なる構造式をもつ。すなわち、 ϵ の位置にアミノ基1ケをもつ ω -アミノ酸の一種である。本品は無色柱状結晶乃至白色結晶性粉末で、僅かに苦味があり、融点 $202-204^\circ\text{C}$ で、水にはよく溶けるが、有機溶媒には殆んど溶けず、ただ熱アルコールにのみ僅かに溶けるものである。急性毒性試験ではマウス、ウサギを、慢性毒性試験ではウサギを夫々用い、心臓に対する毒性試験には、ガン摘出心臓を用いる八木式灌流法を、血圧、血液像に対する試験にはウサギが用いられた。

毒性試験の実験方法は常法通り行なったが、その詳細については、夫々に記載した。

またアレルギー現象に対する実験方法も実験材料とともに、夫々の項で述べることにした。

III. ϵ -アミノ-n-カプロン酸の毒性試験

A) 急性毒性試験

1) マウスの場合

a) 予備試験

体重 $15-20\text{g}$ のマウス5尾宛を1群とし、kg

* 三菱化成研究所

[昭和35年9月14日受付]

当り 1g, 2g, 3g, 4g, 5g を夫々の尾静脈内に注射した場合, 4g 以下においては, 全く毒性が認められないことを確認した。

b) 本試験

体重 15-20g のマウス48尾を4群に分ち, 各群のマウスに夫々kg 当り 4g, 5g, 6g, 7g 宛を尾静脈内に注射し, その生死により Behrens-Kärber 法⁶⁾を適用し, ϵ -アミノ-n-カプロン酸のマウスに対する LD₅₀ を算定した。

Behrens-Kärber 法による LD₅₀ の算定方式

$$(a\mu) = Dm - \frac{\sum(Z \cdot d)}{m}$$

茲に (a μ): 致死量の算術平均

Dm: 確実致死量

Z: 2つの連続した薬量により死亡した動物数の和の 1/2

d: 2つの連続した薬量の差

m: 一群中の動物数

Dosis Volume	4 g/kg	5 g/kg	6 g/kg	7 g/kg
Living	12	11	4	0
Death	0	1	8	12
Z		0.5	4.5	10
d		1	1	1
Z·d		0.5	4.5	10
$\sum(Z \cdot d)$			15.0	

Dm=7, m=12

公式に代入すれば, $(a\mu) = 7 - \frac{15}{12} = 5.75$

故に LD₅₀=5.75 g/kg となる。

2) ウサギの場合

体重 2-3kg のウサギ5羽を用い, kg 当り 2g の上記薬剤を耳静脈内に投与しても, マウスの時と同様, 全く毒性は認められなかった。ウサギの LD₅₀ は事実上, 測定出来なかった。それほど, 毒性は極めて低いものであった。

B) 慢性毒性試験

健康なウサギに kg 当り 1g 宛を1日1回, 10日間, 耳静脈内に注射し, 1週間経過後に屠殺し, 各臓器の変化を病理組織学的に検査した。病理組織標本の検査には, 慶大病理学教室, 現群馬大, 大根田教授の御好意によった。その成績は次の如くで, 殆んど障害となるような変化

はないという認定が得られた。

第1実験例 (ウサギ, ♂, 体重 2.8 kg)

1. 大脳: 異常なし。
2. 小脳: 異常なし。
3. 脳橋: 異常なし。
4. 心: 心筋の脂肪変性 (+)。
5. 肺: 異常なし。
6. 肝: 肝細胞の変性 (-), 壊死 (-), 炎症性変化 (-)。
7. 脾: 淋巴濾胞はとくに反応していない。その他は異常なし。
8. 腎: 主部細尿管上皮に軽度の瀰濁腫脹あり (蛋白変性)。
9. 副腎: 異常なし。
10. 睪丸: 精細胞の形成には, 異常を認めない。
11. 腸間膜淋巴腺: 洞カタル (++)。

第2実験例 (ウサギ, ♀, 体重 2.7 kg)

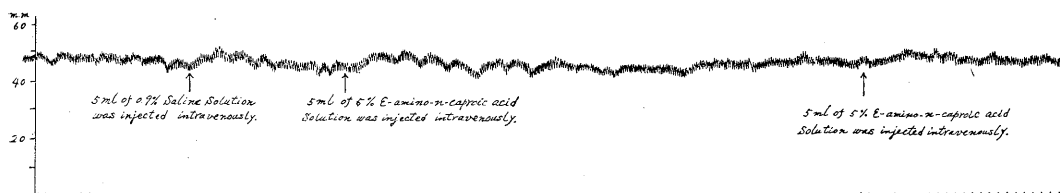
1. 大脳: 異常なし。
2. 小脳: 異常なし。
3. 心: 心筋の脂肪変性 (+)。
4. 肺: 異常なし。
5. 肝: 中心性鬱血 (+)。
6. 脾: 洞カタル (±)。
7. 胃: 異常なし。
8. 腸: 異常なし。
9. 腎: 主部細尿管上皮の瀰濁腫脹 (±)。
10. 副腎: 異常なし。
11. 腸間膜淋巴腺: 洞カタル (+)。

上記の慢性毒性試験の成績を人体に換算すれば, 毎日 50-60g の ϵ -アミノ-n-カプロン酸を10間連続の静脈注射をして, なお且つ安全性を物語るものであり, 毒性の極めて低い薬剤であることが観察された。

C) その他の毒性試験

1) ガマ摘出心臓に対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の影響

八木式灌流法を用いて, ガマの摘出した心臓に対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の影響を調べた。すなわち, ϵ -アミノ-n-カプロン酸の 1/10 mol 溶液 1ml を装置内の灌流液に加えた場合

Fig. 1. The effects of ϵ -amino-n-caproic acid on the blood presser of rabbit.

には、対照の 1/20 mol 磷酸緩衝液を加えた場合と同様に、何等みるべき影響が認められなかった。

2) ウサギの血圧に対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の影響

Fig. 1 に見られる如く、5%の ϵ -アミノ-n-カプロン酸溶液 5 ml を耳静脈に注入しても、対照とした 0.9% 生理的食塩水と同様に、ウサギの血圧に対しては、何等みるべき影響は認められなかった。

3) ウサギの血液像に対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の影響

25%の ϵ -アミノ-n-カプロン酸溶液 5 ml 宛を1日1回、11日間連続して健康なウサギに静注後、その血液像を検査した結果、赤血球、白血球、血色素係数に対し、何等みるべき変化が認められなかった。

また、健康なウサギに25%の ϵ -アミノ-n-カプロン酸溶液 5 ml 宛を連続10日間、静脈内に投与して血液フィブリノーゲン値を測定したが、その変動は正常動揺範囲を越えることはなく、血液フィブリノーゲン量に対しては、殆んど影響を与えないものと認められた。

IV. 若干のアレルギー現象に対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の作用について

A) テンジクネズミの急性アナフィラキシーについて

1) 実験材料及び実験方法

テンジクネズミの腹腔内にウマ血清 1 ml を注射して感作させ、2週間経過後、さらに静脈内にウマ血清 0.3 ml を注射して、急性アナフィラキシーを惹起させ、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸投与群（腹腔内へ5%液 1 ml を惹起注射2時

Table 1.

The effect of ϵ -amino-n-caproic acid to the anaphylaxis of guinea pigs.

Treatment	Number of case examined	Death	Living	Death rate by anaphylaxis
ϵ -amino-n-caproic acid was given	20 cases	18 cases	2 cases	90%
Control	20 cases	19 cases	1 cases	95%

間前に投与) と対照群（腹腔内へ 0.9% 生理的食塩水 1 ml を惹起注射2時間前に投与) について、アナフィラキシーによる死亡率を比較した。

2) 実験成績

惹起注射の直後不安となり、毛を立てて痙攣を起し、くさめ、吃逆をし呼吸困難となり、麻痺を起して斃死した。斃死したものは、何れも急性肺気腫あるいは肺拡張を起していた。 ϵ -アミノ-n-カプロン酸の前投与も、テンジクネズミの急性アナフィラキシー死に対しては、何等抑制作用は認められなかった。

B. マウスの遷延性のアナフィラキシーについて

1) 実験材料及び実験方法

成熟マウスの腹腔内にウマ血清 1 ml を2回にわたり注射し、さらに1週間後に尾静脈内ウマ血清 0.3 ml を注射して、遷延性のアナフィラキシーを惹起させ、その死亡率について、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸投与群（腹腔内へ5%液 1 ml を惹起注射2時間前に投与) と対照群（腹腔内へ 0.9% 生理的食塩水 1 ml を、惹起注射2時間前に投与) とについての比較をした。

2) 実験成績

この場合は、テンジクネズミの場合と異り、

Table 2.

The effect of ϵ -amino-n-caproic acid to the anaphylaxis of mice which occurs in protracted course.

Treatment	Number of case examined	Death	Living	Death rate by anaphylaxis
ϵ -amino-n-caproic acid was given	37 cases	10 cases	27 cases	27%
Control	36 cases	23 cases	13 cases	64%

惹起注射直後には急激なアナフィラキシー症状を起さなかった。しかし対照群では数時間のうちに、徐々にショック様の症状を起し、36例中23例が死亡した。このようないわゆる遷延性に経過するマウスのアナフィラキシー死にたいして、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸の前投与群では、37例中10例が死亡したが、死亡率は対照群よりも明らかに低下した。試験成績は Table 2 の通りであった。

C) ウサギのアルチュス現象について

1) 実験材料及び実験方法

a) ウマ血清を抗原とする免疫血清の調製

5%の石炭酸水1/10量を添加したウマ血清の2 ml 宛を、隔日にウサギに静脈注射し、合計10回乃至15回の感作を行ない、その後10日間、飼育した後、全採血して血清を分離し非働化して使用した。

b) ウサギの受身感作

上述のウマ血清を抗原とする免疫血清 20 ml をウサギの腹腔をウサギの腹腔内に注射し、ウサギを受身に感作させた。

c) アルチュス現象の惹起

上述のように、ウサギをウマ血清に対し受身に感作した後、24時間後に、そのウサギの皮内に正常のウマ血清 1 ml を注射して生起するアルチュス現象の強度を観察した。

すなわち、ウマ血清中にあらかじめ20%の割合に ϵ -アミノ-n-カプロン酸を溶解させ、これをアルチュス現象の惹起抗原として皮内に注射した場合と、ウマ血清のみを同じく皮内に注射した場合 (対照) とにおいて、発現するアルチ

ュス現象の強度を比較した。

2) 実験成績

著者の観察したかぎりでは、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸のアルチュス現象に対する抑制効果は対照に較べ、明瞭には認められなかった。

V. 考 察

A) ϵ -アミノ-n-カプロン酸の毒性について

マウスを用いた ϵ -アミノ-n-カプロン酸の急性毒性試験では、 $LD_{50}=5.75\text{ g/kg}$ (静脈注射) であり、その毒性は極めて低いものであった。

一方、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸は、 10^{-5} mol 程度でプラスミン系の作用と拮抗する。したがって、上述の毒性試験からみて、循環血中のプラスミンの作用を抑制するにたる ϵ -アミノ-n-カプロン酸の用量は、 LD_{50} が示す値よりもはるかに低いことが示された。またウサギにおいても、 2 g/kg の割合で ϵ -アミノ-n-カプロン酸を静脈内に注射した場合、急性毒性は認められなかった。

さらに、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸を 1 g/kg の割合で、1日1回静脈注射し、10日間これを反復しても、外観的には全く変化は認められず、また屠殺後、組織を鏡検しても、殆んどみるべき所見はなかった。

その他、ガマの摘出心臓、ウサギの血圧及び血液像などに対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の影響を検した場合にも、殆んど意味ある毒性は発見されなかった。

以上の諸事実にもとづき、循環血中のプラスミン系の作用を抑制するために行なう ϵ -アミノ-n-カプロン酸の静脈投与は、實際上、殆んど副作用をもたないことが確認された。

B) 若干のアレルギー現象に対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の作用

一般にいわゆるアナフィラキシー現象とよばれるものは、使用する実験動物の種類、抗原投与の量ならびに型式によって、かなりに異なった特徴を示すものであり、またこれらのアナフィラキシーがかならずしも同一の機作によって起るものとは考えられていない。

ない。

したがって著者はアレルギー現象の 2, 3 の異なった型式のものを採り上げ、夫々について ϵ -アミノ-n-カプロン酸の作用を検討した。

まずテンジクネズミの急性の全身アナフィラキシー (ショック) については、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸は殆んどその効果を示さなかった。

しかし乍ら、アナフィラキシーにたいし、ウサギよりも抵抗性の強いマウスを用いた実験では、アナフィラキシーそのものが遷延性に経過し、生存率を決定するためには、数時間の観察を要する。このような場合においては、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸の前投与は対照例の64%死亡を27%に減らせることに役立った。

しかし乍ら、いわゆる急性の局所アナフィラキシーに属するアルチュス現象に対しては、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸の効果は明らかでなかった。上述のいわば遷延性のアナフィラキシーに対し、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸が拮抗作用をもつという事実は、すでに臨床的にもある意味が裏付けられている。

糸賀ら⁷⁾は典型的な遷延性アナフィラキシーであるツベルクリン反応が、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸でよく抑制されることを示した。

以上の諸事実にもとづき ϵ -アミノ-n-カプロン酸はある特定のアナフィラキシーの抑制にある程度まで有効であることを示した。

これらの著者の研究は、その後の基礎ならびに臨床研究に基礎を提供し得たものと見做されよう。

VI. 結 論

1) ϵ -アミノ-n-カプロン酸についての種々の毒性試験を行なった

a) 急性毒性試験では、マウスにおいて $LD_{50}=5.75 \text{ g/kg}$ (静脈注射) であり、ウサギでは静脈注射で 2 g/kg を投与しても、急性毒性は全く認められなかった。

b) ウサギに対する慢性毒性試験においても、 1 g/kg , 10日間の連続静脈注射で障害とな

るような変化は殆んど認められなかった。

c) その他、ガマの摘出心臓、ウサギの血圧及び血液像に対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の影響を試験したが、何れも認めるべき毒性はなかった。

以上の如く、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸は試験動物に対し、全く低毒性の物質であると結論された。

2) 若干の種類のアレルギー現象に対する ϵ -アミノ-n-カプロン酸の作用が検討された。

a) テンジクネズミの急性アナフィラキシーに対しては、抑制効果がなかった。

b) マウスの遷延性のアナフィラキシーに対しては明らかに抑制作用が認められた。

c) ウサギのアルチュス現象に対しては、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸を局所的に抗原とともに与えても、殆んど抑制効果は見出されなかった。

以上の事実は、特定のアナフィラキシーにのみ、 ϵ -アミノ-n-カプロン酸が抑制的に作用することを示した。

擱筆するにあたり、終始御指導、御校閲をいただいた岡本彰祐教授に深甚なる謝意を表するとともに、熱心なる御指導、御鞭撻を賜った三菱化成研究所長、長沢不二男博士、同研究室長高木鋭一博士に衷心より感謝の意を表し、種々御協力を与えられた塚田裕三教授に深謝する。尚、林 麟教授、須田勇教授、宮木高明教授、牛場大蔵教授から与えられた御示唆に対し謝意を表明する。

文 献

- 1) Ungar, G. (1947) Lancet, **1**, 708
- 2) Ungar, G. & S. H. Mist (1949) J. Exp. Med. **90**, 39
- 3) Jobling, J. W., W. Peterson & A. A. Eggstein (1915) J. Exp. Med. **22**, 401
- 4) 横井弥毅男 (1960) 日本生理誌 **22**, 1103
- 5) Noboru Watanabe, Jiro Takita & Keiji Shirasaki (1952) Chem. Abstract, **46**, 9716
- 6) Behrens & Kärber (1931) Arch. f. Exp. Pathol. u. Pharmacol. **162**, 480
- 7) Gizo Itoga & Takeo Yogo (1959) Keio J. Med. **8**, 299

Summary

1) Various tests were made on the toxicity of ϵ -amino-n-caproic acid to the experimental animals.

a) Results obtained from acute test indicated that LD_{50} was 5.75 g per kg body weight in the mice when ϵ -amino-n-caproic acid was introduced intravenously.

In acute test to the rabbit, any noticeable toxicity was never perceived even when 2 g per kg body weight was intravenously administered.

b) In the chronic toxicity examination in which 1 g per kg body weight in the rabbit was intravenously administered once a day for ten days, any injurious changes couldn't be seen.

c) Any marked disturbance for the action of the isolated heart of toad was not detectable when ϵ -amino-n-caproic acid was added.

The intravenous administration of ϵ -amino-n-caproic acid to the rabbit did not cause any marked disturbance of the blood pressure and the blood spectrum.

It was concluded that ϵ -amino-n-caproic acid was little toxic to the examined animals.

2) The effects of the administration of ϵ -amino-n-caproic acid on the some allergic phenomena were observed.

a) Acute anaphylaxis of guinea pig was not inhibited when ϵ -amino-n-caproic acid was administered intravenously prior to the injection of antigen.

b) However, the anaphylaxis of mice which occurs in the protracted course was obviously inhibited when ϵ -amino-n-caproic acid was administered intravenously prior to the injection of antigen.

c) No inhibitory effect was found in the Arthus phenomena of rabbit when ϵ -amino-n-caproic acid mixed with antigen was administered intracutaneously.

These effects indicated that ϵ -amino-n-caproic acid was able to suppress the some type of anaphylaxis without bringing about any side action.

(Central Research Laboratory, Mitsubishi Chemical Industries Limited, Kawasaki)

多様式記録による延滞運動条件反射の消去及び

汎化の様相について 612.833.81

Polygraphic studies on the features of extinction and generalization
of the delayed conditioned motor reflex

田 口 静 雄 (TAGUCHI-Shizuo)*

I. 緒 言

Pavlov²³⁾の主として自律神経系機能を指標とした条件反射と並んで回避運動反射を指標とした所謂 Bekhterev²⁾による中枢神経系の機能の追求も盛んで、アメリカの研究⁸⁾⁹⁾はこれが主流をなしている観がある程であり、ソ連でも Popov²⁴⁾, Makhova¹⁷⁾及び Kislyakov¹²⁾を初めとし幾多の業績があげられている。

我が国でも Pavlov の流れをくむ研究として 林⁶⁾⁷⁾を初めとして 須田²⁸⁾²⁹⁾, 古武¹⁴⁾¹⁵⁾およびその研究室のものが多く見出され、運動反射を指標としたものでは 吉井³²⁾³³⁾³⁴⁾, 時実³⁰⁾²⁷⁾, 本川¹⁹⁾²⁰⁾及び 岩間¹⁰⁾¹¹⁾らのものがある。

しかし人間を被験体とし筋電図や脳波等の方法を用いての運動条件反射の追求は比較的少なく、福岡⁵⁾, 岡村²²⁾, 小谷¹⁶⁾, 張³⁾及び永田²¹⁾らの業績がある程度である。

また条件反射の種類には、最も多く用いられる同時条件反射の他に延滞条件反射や痕跡条件反射がある。上述の永田²¹⁾は延滞条件反射の形成過程を多様式記録によって追求したものである。

運動条件反射の強化法にも、最近は不快な電気ショックの代りに言語指示法や言語強化法²⁵⁾が用いられるようになり、我国でもこの方法を用いて 藤原⁴⁾や 松野¹⁸⁾が優れた業績を公けにしている。

そこで著者は延滞運動条件反射の消去及び汎化の過程を運動のメカノグラム、筋電図・心電図、脳波、脈波及び GSR の多様式記録法によ

って追求した所興味ある2,3の成績を得たので報告する。

なお、本文に用いる反射、反応及び応答の語は福岡⁵⁾, 永田²¹⁾の見解に従った。

II. 実験方法

1. 被験者、実験日時及び実験室

運動条件反射についてあまり知らない健康成人6名(内1名は女子)を被験者とした。実験日時は随意反応を1960年2,3月に運動条件反射を同年4,5月に行ない、形成後直ちに汎化、続いて消去実験を行なった。

実験装置の概要を示すと第1図の如くである。即ち永田²¹⁾の方法に準じて室温20-25°Cの準防音の電氣的に遮蔽された暗室(実験室)内

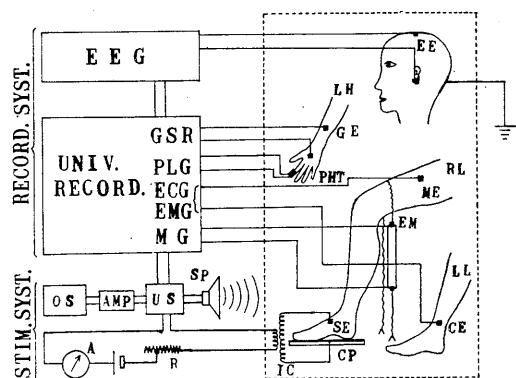


Fig. 1.

Apparatus of experiment.

(Note) STIM. SYST.:stimulating system, OS: oscillator, AMP:amplifier, US:Dodgès universal stimulator, SE:stimulating electrode, CP:copper plate, RECORD. SYST.:recording system. Univ. Record:universal recorder, MG:mechanogram, LH:left hand, PHT:photo-transistor, RL:right leg: LL:left leg.

* 東京歯科大学生理学教室 (伊藤秀三郎教授)
〔昭和35年9月15日受付〕

の安楽椅子に被験者を座らせ、第1図に示す装置で脳波、心電図と筋電図、脈波、運動のメカノグラム及び皮膚電気反射を記録した。

2. 刺激の与え方及び随意反応と運動条件反射との形成、汎化及び消去法 (Fig. 1 Stimulating system 参照)

延滞条件反射の形成法は永田²¹⁾と全く同じ方法によった。その概要は次の如くである。

1) 随意反応は先行言語指示法²⁵⁾によって形成した。即ち条件刺激 (以下 CS と略称する) として先ず 700c/s 約55db の矩形波音を約5秒間隣室より提示し「この音が鳴り終わったら右足をあげて下さい」と指示し、次に CS を付与し、随意反応としての運動応答を起させた。

2) 延滞条件反射は前者と全く同じ CS 付与後直ちに無条件刺激 (以下 UCS と略称する) である電氣的衝撃 (以下 ES と略称する) を弱流 (閾値より僅かに強い程度)、中流 (やや強い程度でこれにより無条件反射としての挙肢反射を生ずる) 及び強流 (非常に強く、これにより相当な情緒<ES に対する恐怖心>を伴ない無条件挙肢反射を生ずる) の順に組合わせて強化した。

ES は万能刺激装置により回路の開閉を瞬間的に行ない UCS の強度は電源電圧及び感応 coil の捲軸距離の調節によって行なった。

UCS の強度は被験者の皮膚の電気抵抗や ES に対する情緒的抵抗力等の複雑な要素によって規定されるものと考えられ、規格化し難いが、大体において一次側電源電圧は 2-12 V、電流 0.5-15 A、捲軸距離は 4-0 cm であった。

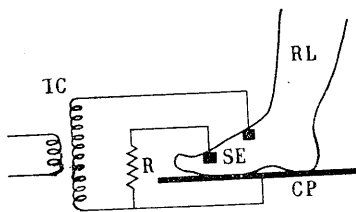


Fig. 2.

Stimulating electrodes of experimental extinction. (Note) By this apparatus, subjects could distinguish the reinforcing and extinction stimulus.

3) UCS の刺激電極は、その上に足をのせておく銅板と足背に貼布した固定電極とによった。従って条件反射の形成後、CS のみによって挙肢運動が生ずるようになれば、即ち挙肢反射が UCS に先行するようになれば、ES は回避することができ所謂道具的条件づけ⁸⁾ (instrumental conditioning) に相当する。

従って著者の形成せる条件反射は道具的条件づけによる回避性の延滞運動条件反射という事になる。なお CS の持続時間や UCS の付与時を常に均一にする為に万能可変刺激装置 (山越製 Dodge's tachitoscope universal stimulator) を用いた。

4) 消去法。随意反応の消去は形成と同様に言語指示法によって行なった。条件反射の消去法は次の2種類を用いた。その1つは、被験者に「これからはもう電気ショックはいかないよ」と言語指示して CS のみを与えるという方法、即ち UCS (ES) を組合わせない方法であり、他の1つは第2図に示すように刺激電極を貼布し、CS により UCS に先行する回避性挙肢反射が生じて UCS を与えれば弱い ES を感ぜられるようにして、強化工作とを被験者に弁別できるようにして行なう方法である。

5) 汎化の実験法。汎化は基本 CS である 700c/s を中心として高低両側に 25c/s ずつに距りの周波数の音を音量を一定にして与えた。基本 CS と汎化 CS との付与順序は基本 CS の間に適宜に汎化 CS を混入させるというようにした。例えば 700, 700, 725, 700, 675, 700, 700, 700, 750, 700, 650, 700, 700 というようにである。

3. 応答の記録法 (Fig. 1 Recording system 参照)

著者は多様式記録による総合的追求のため次の方法を用いた。

1) 脳波。閉眼安静状態における被験者の頭皮上からの単極導出法により脳波を記録した。用いた脳波計は三栄製 (時定数 0.3秒) で、調和解析した脳波記録は主に左運動領野のものである。

2) 心電図および筋電図. 三栄製万能記録装置により挙肢応答の筋電図を左下肢の M. rectus femoris 上に貼布した表面電極により導出し, 心電図はこの系統に筋電図の電極と左下肢踝部に装置した電極とにより導出し, 両者を同一ペンで記録した (時定数 0.05 秒).

3. 挙肢運動のメカノグラム. 左下肢の膝上部と床面とを両端としこの間に硫酸亜鉛の入った呼吸計用のゴム管をつなぎ, 運動に伴う電気抵抗の変化を利用して運動のメカノグラムを記録した (時定数は実験により多少の変更はあるが主なものは 3.0 秒である).

4) 皮膚電気反射. 左上肢の手掌及び手首に装着した電極により電位差法による皮膚電気反射を記録した.

5) 脈波. 左上肢の食指端に豆電球からの透過光線の僅かな変化を感じる photo-transistor を装着しこれより脈波を導出記録した. なお皮膚電気反射と脈波の記録時の紙送り速度は, 変動の観点を容易にするために 2 mm/sec とした.

上述の他, 実験中は被験者の行動観察を怠らず又実験終了後は必ず内省報告を求めた. なお被験者には実験目的や内容は一切知らせなかった.

4. 資料の整理法

脳波は視察による他, 更に精密な検討をするため小林¹³⁾の 72 項重調解析法 (分析時間 2.4 秒) によって α 波の変動を主に追求する目的で 0-15 c/s のスペクトル密度を求めた. 従って β 波等の速波の変動は著者のスペクトル密度では追求しなかった.

筋電図, 皮膚電気反射, 運動のメカノグラム及び脈波は全体的特徴の視察を行ない, 心電図は波形の検討は行なわず心搏間隔の測定のみを行なった.

Ⅲ. 実験成績

1. 消去に関する諸成績

消去に伴う各種の身体的表出の中で特に代表的なそれとして挙肢運動応答の様相を先ず述べ

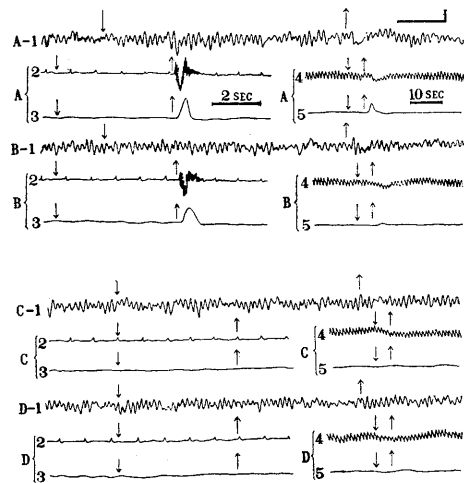


Fig. 3.

Polygraphic records of positive reaction (A, B)

and extinction (C, D) in voluntary reaction.

(Note) 1. 1: EEG, 2: ECG, EMG, 3: mechanogram, 4: plethysmogram, 5: GSR in each figures. 2. Arrows show the point of beginning and the end of CS. 3. Remark the time scale.

ることにする.

1) 運動応答の消去について

a) 随意反応について

随意反応は「これからは音がしてももう足を挙げなくともよい」という言語指示により直ちに挙肢反応は消去し, しかも GSR, 脈波, 心電図及び脳波の変化も殆んど消失し, それ以前の随意反応の影響は殆んど残らないようになる. 第 3 図にこれら随意性の陽性反応時の脳波 (A B C D の各 1), 心電図及び筋電図 (各の 2), メカノグラム (各の 3), 脈波 (各の 4), GSR (各の 5) を示す. 但し第 3 図 (A-5, B-5) に見られるように随意反応の GSR は殆んど現われないうか僅かな場合が多く, 随意反応の消失後と大差ないのが普通であった.

第 3 図にその 1 例を示したように, 随意反応の陽性と陰性とでは運動反応 (各の 2 の筋電図, 各の 3 のメカノグラム) の生起と消失及び脳波の CS 終了直後の変化の有無の他は脈波, GSR, 心電図においてあまり顕著な変化は見られない. これらの成績は随意反応の陽性過程と陰性過程とで背景条件に顕著な変化はない事を

示しているものと考えられる。

b) 運動条件反射について

著者の用いた運動条件反射の消去法は実験法において述べたように2種類を用いた。これらの2種の方法により回避運動反射の消去に要する試行回数を表示すると第1表のようである。

この表における実験条件はいずれも UCS は強流 ES であって、弱流 ES では永田²¹⁾の成績と同様に運動反射が形成されない事があり、中流 ES では少ない試行回数で消去が完成する事が多かった。なおこの表中「実験的消去」とは挙肢反射が UCS に先行しても被験者は UCS (ES) が与えられているかいないかを、換言すれば強化工作か消去工作かを弁別できるように刺激電極を貼布した場合であり、「言語指示による消去」とは「これからはもう電気ショックはいかない」と被験者に指示した場合である。

これらの成績によれば言語指示の場合は極めて少数回の試行によって消去され、実験的消去の場合は試行回数は前者よりは多いがその多くは数回乃至10数回前後の試行によって消去されることが分る。これを福岡⁹⁾の回避運動条件反射の同時反射の消去に比べると遙かに少ない試行回数となっていることが特徴的である。

なお、回避反射は消去されても脈波、GSR 等の反射の消去は未だ完成しないことは後述の通りである。

次に、実験的消去過程の筋電図およびそのメカノグラムを消去に要する試行回数4回の例[K]と12回の例[G]とを示すと第4図、第5図の如くである。なお、言語指示による消去の場合は指示後直ちに挙肢反射は消失し完全消失と大差のない筋電図となったので図示するのを省

略した。

これらの図によれば、陽性反射の筋電図によ

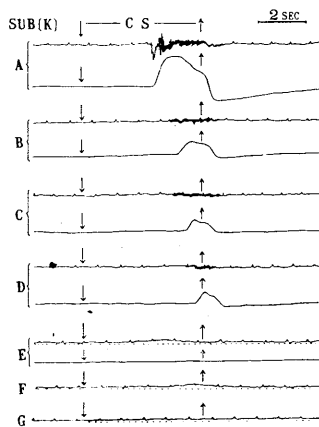


Fig. 4.

EMG and mechanogram in the process of experimental extinction.

(Note) A: stage of reinforcement (positive reflex) B-G: process of extinction B (2 the trial), C (3 the trial), D (4 the trial), E (5 the trial), F (6 the trial), G (9 the trial).

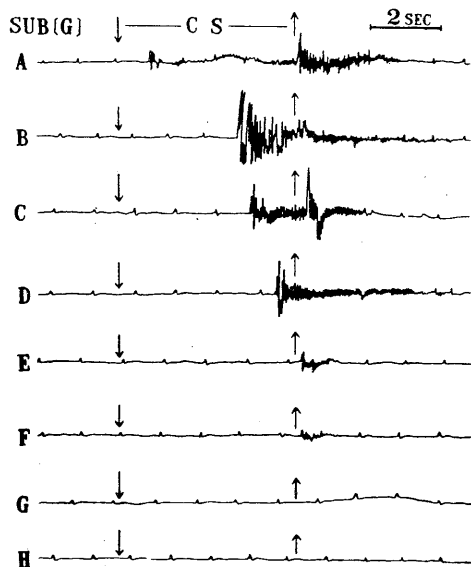


Fig. 5.

EMG as sameas

(Note) A, B: reinforcement (positive reflex) C-H: extinction C (4 the trial), D (9 the trial), E (10 the trial), F (12 the trial), G (13 the trial), H (16 the trial).

Table 1.

Numbers of trial in extinction of avoidance reflex.

回数	実験的消去	言語指示による消去
0-2回	0 (例)	5 (例)
2-4	1	1
4-6	1	0
6-8	0	0
8-10	2	0
10以上	2	0

れば放電量も大きく、その持続時間も長く、反射が CS 付与中に起っていることが分り、メカノグラムによれば運動量も大きいことが分るが、消去工作の進行に伴って放電量も次第に減少し遂に完全に消失すること、それに伴い運動量も減少していくこと、持続時間も短縮し、弱流 ES (UCS) 或いは中流 ES の初期の反射の様相に似て CS 終了時に挙肢反射が起るようになることなどの特質が見出される。

なお、第 4 図の E, F, 第 5 図の G に示すように運動反射の消去直後に筋電図の基線の上昇が認められるが、更に消去工作が進んで初めて第 4 図 G, 第 5 図 H のように平坦となっている。これは如何なる原因によるものかは追求できなかったが、運動反射は消去しても潜在的な何等かの変化が筋活動に残存していることを示しているのではないかと推定される。

2) 心搏間隔の変動について

先に永田²¹⁾は運動条件反射の強化時に心搏間隔が短縮し、消去工作の進行に伴い再び延長する成績を得た。その代表的 2 例を示すと第 6 図の如くである。この 2 例の中例 (G) は比較的に間隔の長い者、例 (K) は短い者である。なお随意反応は言語指示により直ちに消去され、経過を見ても殆んど変化ないので実験条件の 4, 5 は省略した。

これらの成績に示すように随意反応では陽性反応時も消去後も大差ないが、運動条件反射では UCS (ES) の刺激強度が強い程強化中の心搏間隔の短縮が大である。即ち実験経過における変化率が大である事、消去後は実験条件の如何に拘わらず殆んどが実験前の状態にもどっていることが見られる。心搏間隔を実際に示す資料は第 3, 4 図の心電図 (筋電図と同一記録) 及び後述の多くの心電図で見られるので省略した。

3) 条件反射の消去過程における脳波、筋電図、脈波、GSR 等の様相について

随意反応における多様式記録の様相は前掲第 3 図に示したが、条件反射の消去過程を見ると回避反射は消去されても他の表出は残存してい

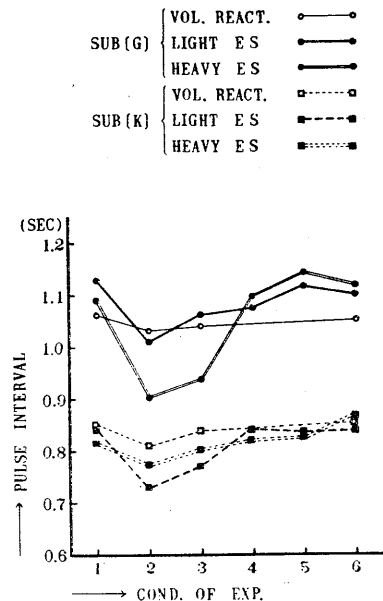


Fig. 6.

Change of pulse interval in the process of experiment.

(Note) Condition of experiment 1: before experiment, 2: during reinforcement, 3: the early stage of extinction, 4: the middle stage of extinction, 5: the latter stage of the same, 6: after five minutes from the end of experiment.

るので、その代表的 1 例を実験的消去法の場合と言語指示による消去の場合について示すと第 7 図の 1, 2 の如くである。

上述の成績と前述第 3 図 (随意反応の消去) とを比較すると消去過程において次の事が見出された。

イ) 随意反応の脳波は CS 終了時の挙肢反応の起る時に変化が見られ、消去後は初めの 1 回にのみそれが見られるが (第 3 図 C-1 参照), その後は何等の変化も示さない。条件反射の脳波を通観すると CS 開始時と CS 終了時 (UCS の付与時) との 2 カ所に変化が認められる。消去工作の初めにもそれが残存するが多数回の試行の後には消失し、消去の完成後はむしろ α 波の増強の傾向さえ見られる (第 7 図の 1 の F, G, H の各 1 及び第 7 図の 2 の C-1 参照), ロ) 挙肢運動の筋電図の様相は陽性応答時は随意反応においては持続が短く放電量も少ないが条件反

射においては CS 終了前に始まり持続が長く放電の振幅も大きい。消去過程は随意反応は直ちに消去されるのに反し、条件反射は言語指示の際は直ちに消去されるが実験的消去の際は漸次の消去となっていて、その様相は前に述べた通りである。ハ) 運動のメカノグラムは筋電図の様相と一致している。ニ) GSR と脈波との変動は全般的に平行しているが、消去過程においては一般に GSR の消去後も脈波反応は残存し

ている。即ち脈波の方が消去が困難である (第7図1の H の 3, 4, 同じく 2 の C の 4, 5, 参照)。GSR と脈波について随意反応と条件反射とを比べると、前者は陽性応答時にも顕著な変化を示さず、消去後は急速に無変化に近い状態となるが、後者は陽性応答時には激しい変動を示し、消去過程では挙肢反射の消去後も両反応は消去されずに残っている (第7図の 1 の F, G, H の 3, 4, 及び同じく 2 の B, C の 4, 5, 参照)。

上述の多様式記録に現われた消去過程の様相を通観すると随意反応の各種表出 (脈波、筋活動、脳波、GSR等) は急激に平行的に消去するが、条件反射のそれは漸次的であってその順序は筋活動、脳波、GSR、脈波の順に段階的に消去されるようである。

なお、陽性反射時の脈波反応に CS 付与時に顕著な振幅の減少の見られない場合 (例えば第7図の 2 の A-4) もあるが、これは前後の関係から見ると脈波の振幅の全般的収縮の状態 (被験者はこの時極度の緊張状態にあるようである) にある為、一過性の収縮があまり顕われなかったのであろうと考えられる。

次に脳波の変化の様相は視察によったのでは見誤る事があるので、第7図の 2 の A 及び C の下線部分を分析し、0-15 c/s 間のスペクトル密度を求めてみると第8図の如くであった。

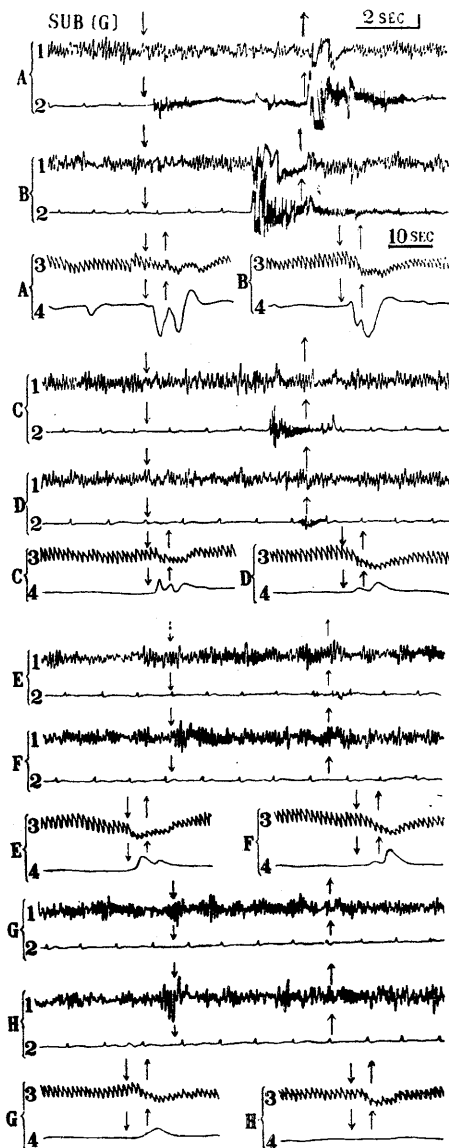


Fig. 7-1. Explanation in (Fig. 7-2).

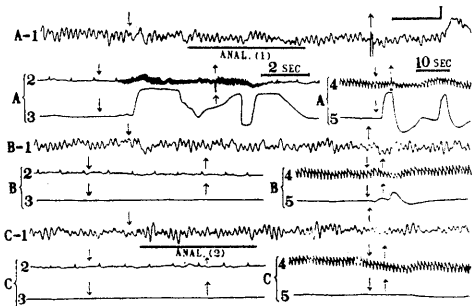


fig. 7-2.

Polygraphic records of experimental extinction (Fig. 7-1) and extinction by verbal instruction (Fig. 7-2).

(Note) 1. Sec fig. 3 in respect of 1, 2, 3, 4, 5, in each figure. 2. In fig. 7-1, A: reinforcement (positive reflex), B-H: process of extinction. 3. In fig. 7-2, underlines show the part of analysis.

これによると、上図の 0-1 c/s の徐波は筋運動に伴う artifact と考えて除外するとすれば、陽性反射時の脳波は約 10.5 c/s に頂点があるのに対し、消去後のそれは α 波の帯域においてもやや徐波化している他全般的に徐波成分が進出している事が見られる。これは見た目にはあまり変化のない脳波でも、精神状態が極度に緊張している時は α 波が僅かながら速波化し、弛緩すればやや徐波化する事を示しているものと考えられる。

前述の GSR の変動及び脈波の振幅の全般的収縮と精神状態との関連を示す 1 例を示すと第 9 図の如くである

これによると、条件反射の陽性反射時には全般的収縮の状態 (A 参照) にあるが、消去工作の進行に伴い漸次振幅が増大していく過程が見られる。但し E は初めて挙肢反射を起さなかった時であって、再び両反応に著しい変化が生じている。この初めて回避しないでの時の被験者の精神状態は相当の危懼感を伴い、このような変化を呈するのも理解できることである。なお本図の I は V.I. 後において急速な振幅の増大を示し、H.C. において両反応に一過性的の変

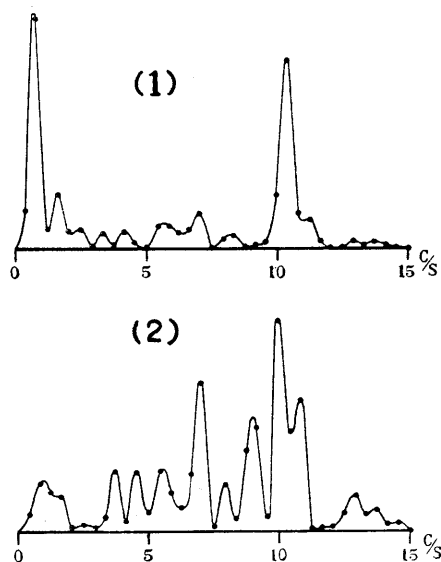


Fig. 8.

Power spectra (0-15c/s) of the part underlined in fig. 7-2.

動を示しているのが認められる。

本図の成績は GSR は情緒の表出のみであるが、脈波は情緒ばかりでなく、もっと永続性のある精神の緊張弛緩の状態をも表出していることを示すものと考えられる。

2. 汎化における多様式記録の様相について

1) 随意反応及び運動条件反射における汎化範囲について

両者の汎化範囲 (同じ周波数の音刺激で 1 回でも陽性応答をした場合は汎化したものと見なした) を例数を以て示すと第 10 図のようになった。

これによると両者とも低周波よりも高周波の方に汎化音域は広く、又随意反応よりは条件反射の方が汎化音域が広いことが見られる。しか

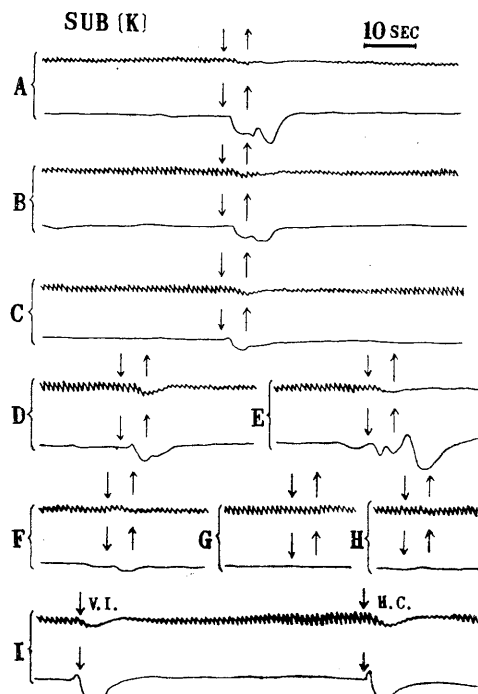


Fig. 9.

Plethysmogram and GSR in the process of extinction.

(Note) A: reinforcement (positive reflex), B-H: the process of extinction. B-D: leg up reflex, E-H: non-reflex. B (2nd trial), C (3), D (5). E (6, the first time of no leg up reflex), F (9), G (10), H (11). V.I.: verbal instruction after the end of experiment, H.C.: clapping of hands.

し、この成績を福岡⁵⁾の同時運動条件反射に比

べると著しく汎化範囲が小さいことが認められる。

2. 多様式記録の様相について

代表的な記録の一部を示すと第11, 12図の如くである。即ち第11図は2例の記録で左から脈波, GSR, 筋電図・心電図, 運動のメカノグラム及び脳波である。第12図は1例について左から同様の順で示した。なお基準CSである700c/sが第11図のC, 第12図のGにおいてあるのは汎化刺激に無応答となったのでテストの意味で再び陽性CSを与えてみた時の記録である。

これらの成績によると条件反射においては挙肢運動の筋電図およびメカノグラムは常に基準CSである700c/sの時最大で、それより遠ざかる周波数となるに従い減少し、且つCS開始後反射の起るまでの潜時が延長しその持続時間も

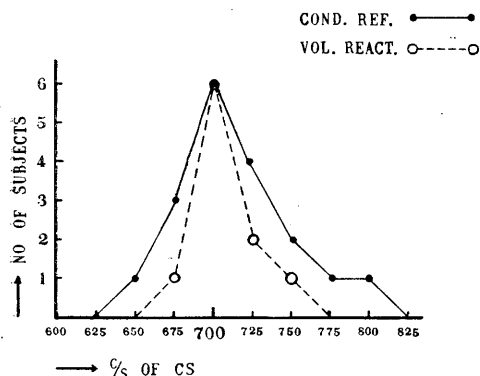


Fig. 10.

Number of subjects responded to the stimulation of generalization in conditioned reflex and voluntary reaction.

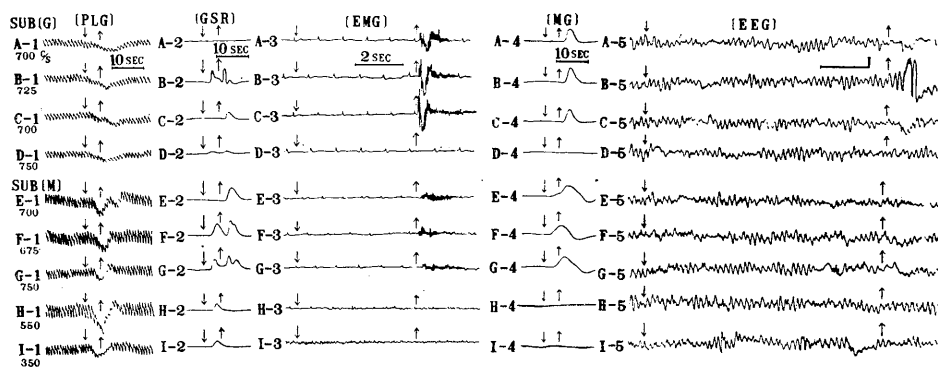


Fig. 11.

Polygram of generalization in voluntary reaction
(Note) Numerals at left side show the c/s of es.

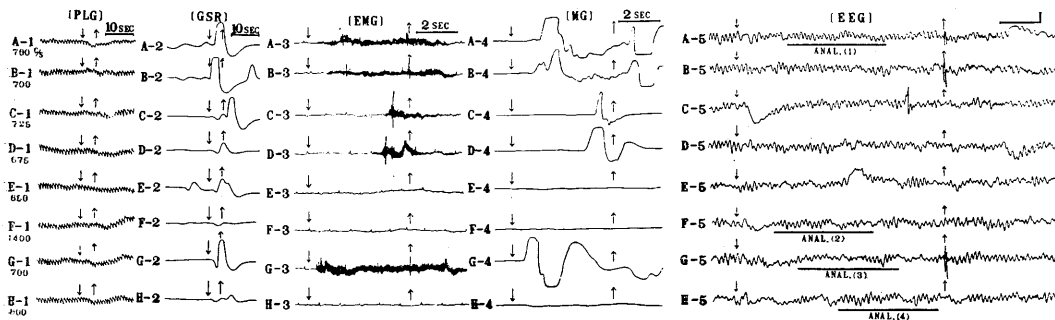


Fig. 12.

Polygram of generalization in conditioned reflex.

(Note) 1, Explanation same as Fig. 11. 2, Underlined pars in EEG show the analyzed one.

短くなっており（但し消去の際のように CS 終了時即ち UCS 付与時に挙肢反射が起るようなことは殆んどなかった）、又脈波や GSR も同じような傾向をとっているが、随意反応の脈波或いは GSR は必ずしも基準音を離れるに従って減少するとは限らず、時として汎化刺激の方が反って増大している場合もあるのが認められる（第11図の B-1, B-2 や F-1, F-2 および G-1, G-2 参照）。この増大は慣熟した 700c/s でなしに僅かに差のある CS が与えられた為軽い不審或いは驚愕の心理過程が生じた為であろうと推定される。

基準 CS と大差のある倍音 350c/s（第11図の I-1, I-2 参照）を随意反応時に与えた時或いは 1400c/s（第12図の F-1, F-2 参照）は運動反射は現われないうが、脈波、GSR の小さい反応は現われている。これは或いは基準 CS からこの位距れば脈波も GSR も小さな変動となるといった方がよいかも知れない。消去過程における基線の上昇と同様な現象が第12図の E-3, F-3 の筋電図に現われている。

なお条件反射の脈波（第12図の各の 1 参照）は振幅の一過性の減少はあまり認められない。これは陽性反射時の特徴として消去の項で前述したように全般的収縮状態にある為であろうと考えられる。しかし消去の過程と異なるのは、消去の際は消去工作の進行に伴い振幅が次第に増大したのに対し、汎化刺激では基準 CS と相当に差のある音を CS とした場合でも振幅の増大は認められない事であった。これは、振幅の増大は精神状態が緊張から解放されて安楽或いは弛緩の状態になることの表出であって、汎化実験の経過中にはそのような安楽・弛緩状態までには至らない為であろうと推定され、被験者の内省報告はある程度までこれを裏付けている。

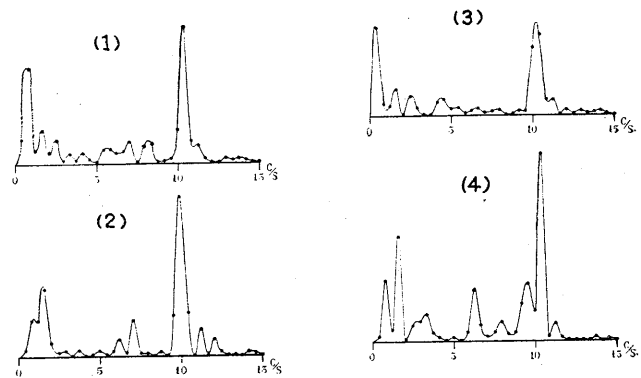


Fig. 13.

Power spectra of EEG during CS' in conditioned reflex.

(Note) 1. Numerals in each figures corresponds the pars in Fig. 12.
2. at generalization (successive generalization stimulus. 3. at positive stimulus in generalization experiment. 4. at alternative stimulation of positive and generalization stimulus.

次に脳波における様相を見ると、随意反応では挙肢反応時には CS 終了後短時間の速波化の特徴が見られるが、汎化刺激で無反応の時は殆んど変化が認められていない。しかし陽性反応でも陰性反応でも CS 開始後に α 波の抑制や速波化の様相が現われている。条件反射では陽性反射時には CS 終了後比較的長い速波化が見られる他は CS 開始後の様相は随意反応と明確な相異は見当らなかった。

そこで、CS 付与中のスペクトル密度を第12図の A, F, G, H の各の 5 の下線部分を求めて示すと第13図の 1（第12図の A-5）、2（同 F-5）、3（同 G-5）、4（同 H-5）のようになった。

これら 3, 4 例の成績から結論するのは早計かも知れないが、(1)は強化実験中であって α 波の中心周波数が約 10.5 c/s となっており、(2)は無反射の汎化刺激時で中心周波数は 10.0 c/s となりやや徐波化し、(3)は汎化実験中に 700 c/s の陽性刺激を与えた時で周波数は 10.3 c/s となり、(4)はそれに続く汎化刺激の為か周波数は 10.5 c/s となっている。即ち陽性刺激を続けて与えている時、或いは緊張状態における時の周波数は 10-11 c/s となり、汎化刺激を続けて与え、前者程緊張度の高くない時は僅かながら徐 α 波化する傾向にあるといい得るのではあるま

いかと推定される。

以上実験成績の主なものをとりあげ、部分的特徴についてはそのつど簡単に考察してきたので、以下共通の特徴を抽出した総括的考察をすることにする。

Ⅳ. 総 括 的 考 察

前述の実験成績の共通の特徴を列挙すると次のようになる。以下これらについて考察することにする。

1. 条件反射の消去過程の筋電図（第4、5図）において最も顕著に現われ、同じく汎化実験（第12図）にも若干その傾向が現われている事であるが、陽性反射の最も強く起っている強化実験中は回避性拳肢反射はCS開始後間もなく現われ、長い持続時間をもっているが、消去工作の進行に伴い或いは汎化刺激が基準刺激（700 c/s）を距るに伴い、反射生起迄の潜時の延長、持続時間の短縮及び放電量の減少が起り、次にはCS終了時にのみ即ちUCSの付与点にのみ反射が起るようになり、遂に運動反射が消失するようになった。

このCS終了時に反射が起ることは、先に永田²¹⁾が弱流或いは中流ESをUCSとして形成した条件反射の様相と一致した結果である。

著者の上述の成績は強化実験中はUCSの刺激効果が非常に強い為、本来はUCS付与時を頂点として発生する興奮過程がCS付与時の制止過程を凌駕し、前進したものが、消去或いは汎化実験の過程においては興奮過程が漸次減衰し、後退し、遂には初めのUCS付与時に限定された反射となり消失した為と考察される。従って著者のこの考察は須田²⁸⁾²⁹⁾が、外界から個体に刺激が与えられると大脳皮質には興奮過程と制止過程が同時に起る。条件反射の効果はこの両過程の何れが強いかによって陽性又は陰性に現われるという見解を支持するものであると考える。

2. 消去及び汎化の過程の多様式記録に現われた諸応答の消失の順序は一般に拳肢運動、脳波、GSR、脈波の順となる。また心搏間隔は強

化中は短縮し、消去工作の進行に伴い再び延長する。

著者のこれらの成績は永田²¹⁾の弱流、中流、強流ESをUCSとして条件反射を形成した際の形成順序と逆の関係となっている。

但しこの順序について本川¹⁹⁾はGSRよりも脳波の条件形成の方が先に成立し、脳波条件づけはあらゆる末梢条件づけよりも先行すると述べているが、著者の成績では上述のような順序となっていた。少なくとも消去においては脈波の条件形成は脳波のそれよりも遙かに長く残存した。もっともこれらの相違はGSRや脈波のような末梢表出の記録の感度（gain）と関係するし、脳波の条件形成における変動を認める程度に關係する問題であるから簡単には決定できない事かも知れないと考えられる。

いずれにしても拳肢運動反射は、その前提条件として情緒的或いは全身的な構えのようなものがあってその上に形成されるということを消去という形成とは逆の関係から裏付ける成績であろうと考えられる。心搏間隔の様相も同様な性質のものであろう。

3. 著者の延滞条件反射の消去及び汎化の成績を福岡⁵⁾の同時条件反射のそれと比較すると消去に要する試行回数も汎化範囲も著しく少なくなっている。

これらの相違は、福岡⁵⁾の同時条件反射はCSによって直ちに強い興奮過程が発生する、即ちCSは陽性刺激となっているが、著者の延滞条件反射のCSは基本的には制止過程を発生し陰性刺激となっている為、制止過程によって生ずる消去が完成し易くなり、汎化音域も小範囲にとどまる為であろうと考察される。

また、これを条件反射性（不随意性）とCSの弁別性（随意性）という点から考えると同時反射は反射性で福岡⁵⁾のいう如く随意性の判断が殆んど介入する余地がないのに対し、延滞反射は第12図の汎化の脳波におけるCS開始後の変動様相に見られるように、長いCSの持続期間中にCSを弁別判断し、その上で応答を起す余地がある為と考えられる。

4. 強化実験と消去過程或いは汎化実験時の脳波の著しい変化のある時期を除いて CS 持続中の脳波を比較すると、視察によってはその相違は認め難いが、その一部を分析し周波数スペクトル密度を求めて見ると、消去後のそれは強化中のそれに比べて著しく徐波成分が増し、また汎化刺激を連続した場合はやや徐 α 波化している事が認められた。

本論文は運動反射を中心として追求し、脳波が追求の主対象ではないので、少数例を以て結論を下すのは危険かも知れないが、上述のような傾向は永田²¹⁾の実験終了時の安楽な精神状態の脳波が実験中の緊張状態の脳波よりもやや徐 α 波に変わるという成績や、斎藤²⁶⁾の熟眠中に α 波状の脳波が出現するまで覚醒刺激を強く与えた時の脳波が 10 c/s 弱の α 波であったという成績、内田³¹⁾の老人脳波のスペクトル密度が α (8-9 c/s) 帯域に高い峯を有する者が多いという報告及び荒川¹⁾の既治療進行麻痺患者の脳波が θ 波或いは徐 α 波が多いという報告等と合せ考察すれば、肯定できる傾向ではないかと考えられる。

この事は又、脳波の検討は視察によるだけでは完全ではないことを示す 1 例であると考えられる。

しかし、覚醒時の中枢神経系の活動状態の高揚や低下 (或いは緊張や弛緩) によって脳波が α 波の範囲内で僅かながら速波化したり徐波化したりする機制については追求することができなかった。

5. 消去実験において実験的消去によれば数回乃至10回内外の消去工作を必要とするに対し、言語指示後の消去は直ちに或いは少数回の消去工作によって完成する。

この成績は比較的長い延滞 CS 付与中に挙肢応答の不必要性を判断する為即ち前項(3)で述べた延滞条件反射における随意性判断の介入によって生ずる現象であろうと考察される。同時にこれは言語或いは思考による人間の行動の規制力は相当に強いものであることを示す成績であると考えられる。

V. 結 語

健康成人 6 名を被験者とし、先行言語指示法による随意反応と、約 5 秒間の 700 c/s の矩形波音を延滞 CS とし、CS 終了直後下肢に与える ES を UCS として延滞運動条件反射を形成し両者の消去及び汎化の応答様相を筋電図、心電図、脳波、脈波、GSR 及び運動のメカノグラムの多様式記録によって追求し、これらと被験者の内省報告とを合わせ考察した所次の成績を得た。

1. 消去過程について

1) 随意反応は言語指示によって直ちに形成され、又 1 回の言語指示によって直ちに消去され、筋電図、メカノグラムは勿論、脳波、脈波、GSR 等の応答も殆んど無変化となった。

2) 回避運動反射の消去は「UCS (ES) を付与せず」という言語指示による場合は直ちに或いは少数回の試行によって完成するが、言語指示を与えず強化か消去工作かを弁別できるように刺激電極を貼布した実験的消去法による場合は数回乃至10回内外の試行によって完成した。

3) 強化中の挙肢反射は一般に CS 開始後間もなく即ち UCS 付与点よりずっと前に激しい運動となって現われるが、消去工作の進行に伴いそれは次第におそく、運動量も次第に減少して現われ、遂には UCS 付与点の小さな運動となり消失した。消失後は基線の上昇が少数回起って無変化となった。

4) 実験前、強化中及び消去過程の心搏間隔を測ると随意反応では全過程においてあまり変化しなかったが、条件反射は強化中に最も短縮し、消去過程に入るに従い延長し、実験前とほぼ同様となった。

5) 消去過程における多様式記録の様相は A) 実験的消去の場合は a) 強化中の脳波は CS 開始後及び CS 終了後に α 波の抑制或いは速波化が現われたが、筋運動が減弱する頃から殆んど無変化となり、消去完成後は反って α 波の増強の傾向が認められた。b) 脈波及び GSR は運動反射の消去後も残存したが、消去工作の進

行によって無変化となった。一般に脈波の消去は GSR のそれよりも困難であった。c) 上述の消去の順序は運動反射, 脳波, GSR, 脈波であった。B) 言語指示による消去の場合は上述の特徴が極めて急速に完成した。なお, 強化中と消去完成後の脳波のスペクトル密度を比較すると前者の α 波の中心周波数は 10.5 c/s であるが後者のそれは 10c/s となり一般に徐波成分が増加した。

6) 消去工作の進行に伴い脈波の振幅は拡張した。

2. 汎化様相について

1) 汎化音域は随意反応よりも条件反射の方が広いが, 同時条件反射の音域に比べれば著しく狭かった。又一般に基準 CS から低周波よりも高周波の方にやや汎化し易かった。

2) 随意反応の汎化の様相は基準 CS を距るに従い筋電図の放電量と GSR の減少とが見られたが, 脳波の CS 開始後の速波化は消失しなかった。

3) 条件反射のそれは汎化刺激により運動反射の潜時の延長, 運動量の減少及び GSR の減少が現われたが, 脈波の振幅の拡張は現われなかった。脳波では CS 開始後の α 波の抑制或いは速波化は汎化刺激付与後認められたが, CS 終了後の速波化は挙肢反射の起らない時には現われなかった。

4) 脳波のスペクトル密度を求めると α 波の中心周波数は強化中は 10.5 c/s, 連続しての汎化刺激中は 10 c/s となったが, 基準 CS と汎化刺激とを交互に与えている時に両者とも 10-10.5 c/s となりあまり差が見られなかった。

擱筆するに当り長年にわたり御懇切な御指導と御鞭撻とを戴いた東京歯科大学生理学教室主任, 伊藤秀三郎教授に深甚な感謝を捧げると共に本研究に御協力下さった東京学芸大学, 斎藤義夫助教授並びに被験者の諸氏に謝意を表する。

文 献

1) 荒川直人・他(1960)第9回脳波学会 講演予稿集

- 37
- 2) Bekhterev. V. M. (1932) General principles of human reflexology, International, New York.
- 3) 張 自来(1959)歯科学報 **59**, 5号 付録 1-32
- 4) 藤原喜悦(1960)日本生理誌 **22**, 836
- 5) 福岡 明(1958)阪大医誌 **10**, 875-890
- 6) 林 巖(1950)条件反射応用論 評論社 東京
- 7) 林 巖(1951)条件反射 岩波書店 東京
- 8) Hilgard, E. R. et al. (1940) Conditioning and Learning. Appleton-Century Co. New York.
- 9) Hunt, J. McV. (edit). (1944) Personality and the Behavior disorders. 1-2. Ronald press Co. New York.
- 10) 岩間吉也・他(1952)脳神経領域 **5**, 390
- 11) Iwama, K. et al. (1953) Tohoku J. Exp. Med., **57**, 327
- 12) Kislyakov, V. A. (1952) Zh. Vyssh. Nerv. Deyat. **2**
- 13) Kobayashi, T. (1953) J. Met. Soc. Jap., **31**, 16-35
- 14) 古武弥生(1950)脳研究 第6冊
- 15) 古武弥生(1956)条件反応 共立出版 東京
- 16) 小谷虎次郎(1958)歯科学報 **58**, 7号付録 1-22
- 17) Makhova, T. M. (1956) Zh. Vyssh. Nerv. Deyat. **6**, 319-328
- 18) 松野 豊; (日本生理誌に掲載の予定)
- 19) 小川弘一(1947)脳波 南条書店 東京
- 20) Motokawa, K. & Hujimori, B. (1949) Tohoku J. Exp. Med., **50**, 215-223.
- 21) 永田清次(1960)日本生理誌 **22**, 1035
- 22) 岡村一夫(1958)歯科学報 **58**, 付録 1-23
- 23) Pavlov, I. P., 林 巖訳(1942)条件反射学 三省堂 東京
- 24) Popov, N. F. (1956) Zh. Vyssh. Nerv. Deyat., **6**, 718-725
- 25) Ruliya, A. R. (1953) Doklady na Sobesh. po Bop. Psikhol. 150-181
- 26) 斎藤義夫・他(1960)歯科学報 **60**, 1号付録 153-154
- 27) 島津 浩・他(1958)日本生理誌 **20**, (8号)
- 28) 須田 勇(1942)条件反射 **4**, 381-388
- 29) 須田 勇(1942)条件反射 **4**, 389-394
- 30) 時夷利彦(1958)精神神経誌 **60**, 223-227
- 31) 内田 宏(1960)第9回脳波学会講演予稿集 13-14
- 32) Yoshii, N. et al. (1953) Med. J. Osaka. Univ. **4**, 75-90
- 33) 吉井直三郎(1957)日本生理誌 **19**, 706
- 34) 吉井直三郎(1958)日本生理誌 **20**, (抄録)

Summary

As a result of comparative study by polygraphic records of the voluntary reaction and the delayed conditioned motor reflex on healthy adults, as subjects, the following knowledge has been obtained:

1. On the process of extinction: a. Voluntary reaction, firstly according to verbal instructions on extinction, and GSR, EEG, plethysmogram as well as EMG, mechanogram were subsequently extinguished. b. As for conditioned reflex, the delayed time, once shortened, has again extended along with the extinction experiment, and the amount of reflex has decreased, gradually becoming a small discharge of movement at point on UCS and finally disappeared. The pulse interval which was reduced during the course of reinforcement has again extended as prior to the experiment. After complete extinction was made, EEG showed a tendency of augmentation in α wave. Plethysmogram and GSR still remained after reflex has vanished; however, after a series of extinction trials, they finally became unchangeable. As extinction went on, plethysmogram amplitude has, generally speaking, extended.

2. On generalization: a. The compass of generalization was greater than that of voluntary reaction. b. As for the aspect of generalization of voluntary reaction, a decrease was noticed in the amount of reflex and GSR as it exceeds standard CS. c. As for the aspect of generalization of conditioned reflex, there appeared an extension of latency of motor reflex and some decrease in the amount of movement and GSR. On the other hand, general extension of plethysmogram amplitude did not show.

3. Power spectrum of EEG in central cycle of α wave was as follows, during reinforcement.....10.5 c/s, after extinction.....10 c/s (or lower) during continuous generalization test.....10 c/s. However, when giving positive and generalizing stimulation alternately, it did not show any remarkable difference ranging in 10-10.5 c/s.

(Department of Physiology, Tokyo Dental College)

細胞内電極による網膜機序の研究 612.834.21

(第1報) 異なった深さから得られる数種の活動電位について

Study of the retinal mechanism by means of intracellular microelectrodes
Part I. Several types of action potentials from different depths in the retina

猪 間 そ の (Inoma-Sono)*

I. 緒 言

1865年に Holmgren が網膜活動電位 (ERG) を発見して以来今日まで、ERG 発生部位に関しては多くの議論がなされて来た。しかし最近の富田・村上・橋本¹⁴⁾による蛙網膜に於ける ERG 発生部位に関する実験は、これまで種々異論のあったこの問題に決定的な解決を与えたもので、富田等が従来より主張していた如く ERG の主たる発生層は両極細胞層にあることが確認された。

ERG に関して今後に残された問題点は、細胞単位より見たその発生部位の決定と、その視神経線維放電に対する意義の解明にある。その為には網膜を構成する個々の細胞の活動を分離して研究する必要がある、この意味に於いて微小電極による細胞内誘導は不可欠と考えられる。しかしながら脊椎動物網膜の細胞は一般に極めて小さく、この事が網膜に於ける細胞内誘導を著しく困難にしている。報告も僅かに最近 Brown & Wiesel²⁾、および Wiesel¹⁵⁾が猫の網膜よりの細胞内誘導につき述べているに過ぎない。著者は今般、中⁹⁾による一般の微小電極よりも更に一層細い電極を用いて蛙網膜に於ける細胞内誘導を試み、2, 3 の知見を得たので此処に報告する。

II. 実験方法

実験動物としては主として食用蛙 (*Rana catesbiana*) を用いたが、一部の実験では蟾 (*Bufo*

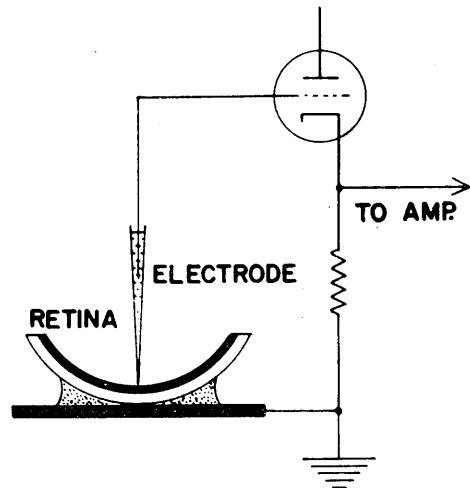


Fig. 1.

Diagrammatic sketch of arrangement for recording the intracellular action potentials from within the frog's retina. The opened eye was placed on Ringer-soaked "Kleenex" covering a silver plate which was used as the indifferent electrode.

vulgaris) をも用いた。しかし両者より得られた反応の間には特別の差異は見出されなかった。

眼球を摘出後前眼部を取り去って眼盃標本となし、電極挿入のさいに障碍となる硝子体は "Kleenex" で十分に吸収除去した。

誘導方法を第1図に示す。不関電極として使用した銀板上に冷血動物用 Ringer 液を十分に浸した "Kleenex" を輪状に置き、その上に眼盃標本をのせ、微小電極は網膜の硝子体側より垂直に挿入した。これより誘導した電位は直流増幅の後 Braun 管に導びき、Grass の Kymograph Camera により記録した。電極の高抵抗 (多くは 100MΩ 前後) により電極よりの雑音は必然的に大きく、表面誘導による ERG はこの雑音にマスクされてほとんどの場合記録出来な

* 慶応義塾大学医学部眼科学教室

慶応義塾大学医学部生理学教室

[昭和35年8月22日受付]

いのが普通であった(第1図参照)。

電極の素材として用いたのは外径 10mm, 内径 6mm 前後の硬質ガラス管(柴田化学工業の SB-24)で, これをガスバーナーで熱して外径 1.0 乃至 1.2mm の毛細管に引き伸ばし, これを微小電極製作器(高橋精機製)にかけて微小電極を作製したが, 中⁹⁾が甲殻類の複眼よりの細胞内誘導で経験したのと同様に, 先端近くの taper が少ない電極が蛙網膜よりの細胞内誘導にも適することを経験した。

電極は数本ずつスライドガラス上に先端が触れ合うことのない様に並べて輪ゴムで固定し, 3M-KCl 中で数分間煮沸してこれを充填した。

刺激としては主として白色光による網膜の全面照射, 及び直径約 140 μ の微小照射を用いた。しかし又一部の実験では Bausch & Lomb 製の干渉フィルターによる単色光の色刺激を用いた。以下特に記載したもの以外はすべて白色光の全面照射を用いている。

実験は室温 15°C 前後の下で行なった。

刺激, 誘導, 記録装置等の詳細については他の論文⁷⁾を参照されたい。

Ⅲ. 実験結果

蛙網膜の硝子体側より微小電極を挿入すると網膜の比較的表層部位に於いて放電が記録され, それより更に深部からは, 光刺激の間持続する主として負の緩電位が記録された。放電の記録される層と魚網膜の S-電位¹¹⁾を思わせる上記緩電位の記録される層とは約 40 μ の差をもって明らかに隔たっており, 後者の得られる深さ及びそれよりも深い部位からは, 放電は一切記録されなかった。

本実験で得られた放電には性質の明らかに異なる数種のものがあるが, 以下これらの中で最も屢々認められたものにつき述べる。なお放電の記録に際してはすべて 20 mV 以上の静止電位の変動が認められ, 且つ放電の大きさも 20 乃至 60 mV に達するものであったことから, それらが細胞内誘導, 又は電極先端が細胞に密着した時に得られる準細胞内誘導によるものと考え

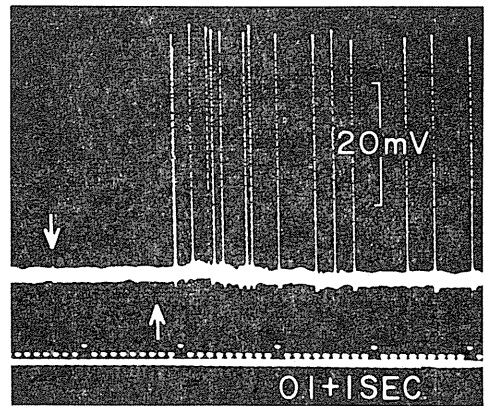


Fig. 2.

Spike potentials of the first type, recorded from the most superficial layer of the retina. The record shows an "off" spike discharge. Spikes of this type are characterized by not having any marked pre- or afterpotential. The receptive field was usually in a retinal region at a distance from the recording electrode, indicating that the recording was from an optic nerve fiber. In this and all subsequent records, the downward arrow indicates "on" and upward "off" of illumination.

られる。

網膜の最も表層から記録される放電は第2図に示すようにその時間的経過が極めて速く, 光の "on" に反応するもの, "off" に反応するもの, および "on-off" に反応するものの区別があり, 自発放電は一般に認められなかった。又この型の放電は光刺激に対する潜時が比較的長く, "off" 放電が長く持続し, 且つ後述の第3の型に見られる様な "off" 放電の grouping は認められない。第2図で明らかのように, この型の放電は緩電位を伴わず, 個々のスパイクの前電位や後電位も著明でない。又多くの場合微小照射を電極先端部位に与えても反応は得られず, 電極部位よりかなり離れた部分を照射した時に反応が現われた。即ち受容域 (receptive field) が電極部位と一致しないことが多かった。これらの事実は, これらの放電が視神経節細胞より出た視神経線維から記録されたものであることを示唆する。

上記第1の型の放電が得られる深さよりも少しく電極を進めた所からは, 時間的経過の比較

的緩やかな放電が得られる。この型のものは光刺激の“on”, “off”, 或いは“on-off”に反応しても得られるが、自発放電となることも多い。しかしながら光に反応する場合も自発放電の場合も共に前電位を以て始まるのがこの型の放電の特徴である。記録の1例を第3図に示す。図のaは電極が細胞内に刺入された直後、又b及びcは電極刺入後しばらくを経たからの掃引速度を速めての記録である。図から明らかな様に、前電位は細胞が弱るに従ってよく分離されて著明になり、第1及び第2の屈曲点を示す様になる。図のbの中ほどに第1の屈曲点に相当する所で小さな電位を残して発火の脱落が認められるが、このように細胞が弱るに従って、第1, 又時には第2の屈曲点に於けるブロックも認められ、その結果掃引速度を遅くして観察すると、3種の異なった高さのスパイクが不規則に現われる様になる。この型の放電の受容域を直径約 140μ の微小照射で検するに、電極を中心としてかなり広範囲を占める。

第2の型の記録されるのとはほぼ同じ深さか、或いはそれよりもやや深い部位からは、第4図

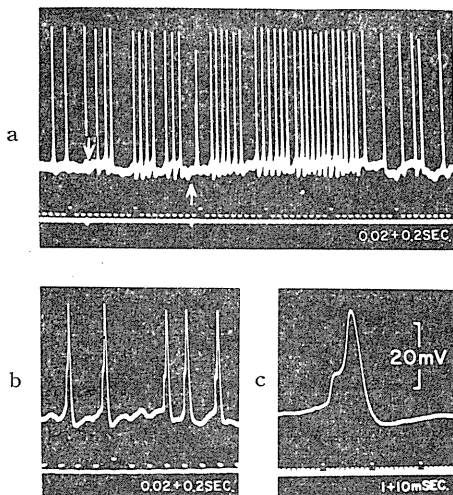


Fig. 3.

Spike potentials of the second type, being discharged spontaneously. Blocking of an impulse spike at the first deflection point is seen in b. In c is shown a single spike potential with two conspicuous deflection points on its rising phase.

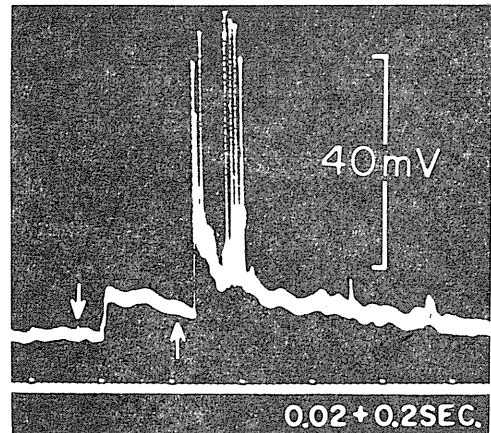


Fig. 4.

Spike potentials of the third type, superimposed on an ERG-like slow potential. Spikes of this type fire on top of fluctuations corresponding to the b- and/or d-wave of the ERG.

に示す様な著明な緩電位を伴う放電が記録される。この場合、電極が細胞内に挿入される前の細胞外誘導に於いて光刺激に応ずる小さな放電がほとんど常に認められ、電極の細胞内挿入後も放電の型は不変で、自発放電はほとんど認められない。放電に伴う緩電位は、光の“on”に反応する一過性の軽度の過分極とそれに続く脱分極、および“off”に反応する脱分極より成るが、これらは夫々 ERG の a-, b-, d-波と類似の経過を示すことが多い。なおこの緩電位は“off”に於いて屢々数個の峰分れを示す。個々のスパイクは第2の型に於けるよりもやや速い時間的経過を示し、明らかに前電位を有して、光の“on”に反応して緩電位のb-波に相当する部位より発火し、又“off”に反応してはd-波に相当する部位より発火する。“off”放電は緩電位の峰分れに従っていくつかのグループに分れることが多い。この様にこの型の放電は光刺激に応じて現われ、緩電位はそのgenerator potentialとして働くものの如くである。

第5図a, bは、同一要素で同一条件下に記録したものであるが、aではその“on”反応で緩電位及びインパルスの前電位のみを残してブロックが認められるのに反し、bでは“on”放電が記録されている。多くの場合この緩電位は放

電が消失した後もかなり長時にわたり認められる。この事実も又、この緩電位が放電に先行する generator potential であるとする考えを支持する。この型の受容域を直径約 140μ の微小照射で検するに、電極を中心として直径約 400 乃至 500μ であった。

第3の型でも ERG を想わせる緩電位の比較的特著でないものが存在した。しかしながらこの場合も放電は常に脱分極方向への基線の移動に伴って認められた。第6図の a, b 及び c は“off”放電を示す同一要素よりの記録であるが、a は $440m\mu$ の青色光照射、b は $610m\mu$ の赤色光照射に対する反応である。a の方が b に比し反応の潜時が短い、両者共白色光照射の場合に較べるとその潜時の延長は著明であった。第6図 c の記録は最初に青色光照射を与えその“off”と同時に赤色光照射を与えたもので、青色光照射による“off”放電は赤色光照射中抑制され、赤色光照射を止めた後に放電が認められる。この“off”放電は個々の照射を別々に与え

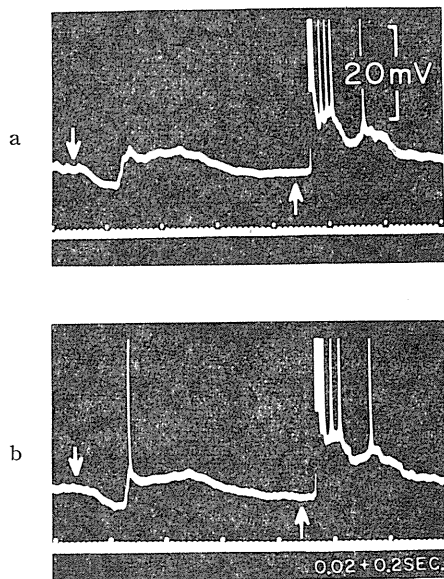


Fig. 5.

Two successive recordings of spike potentials of the third type. In a, the spike potential at “on” failed to fire leaving a small prepotential, but in b, one spike appeared. Upper part of the spikes was off the screen.

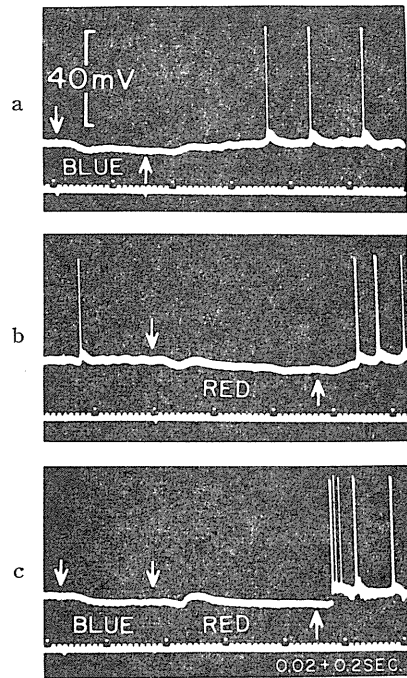


Fig. 6.

Another example of spike potentials of the third type in response to colored light.

a; stimulation by light of $440m\mu$, b; $610m\mu$ c; two lights of $440m\mu$ and $610m\mu$ were successively given.

た時よりも明らかに潜時が短かく、且つ強く現われた。

以上最も屢々記録される放電の3型について述べたが、これらの他にも種々の型の放電が得られた。例えば第7図は上記第2、第3の型の得られる深さ附近から誘導されたもので、周期的に変動する緩電位の正の頂点に乗った自发放電を示し、光刺激中は膜電位の持続的な過分極に伴ない放電の抑制が認められ、光照射を絶つと膜電位はもとのレベルに戻り、再び緩電位の周期的な変化に乗った放電が記録される。Wiesel¹⁵⁾ は猫網膜よりの細胞内誘導に於いて、電極周辺部の輪状照射により膜電位の持続的な過分極とそれに伴う放電の抑制を記録し、同一要素について電極先端部の局所照射では、膜電位の持続的な脱分極とそれに伴う放電の増強を認めたことを報告している。著者の観察した放電

の抑制は網膜の全面照射によるものであり、従って彼の場合とは直ちに比較出来ない。

電極を放電第3型の記録される深さから約30乃至40 μ 進めた所からは、屢々第8図に示すような魚網膜のS-電位に類似した波形を示す負の緩電位が記録される。その大きさは5乃至30mVで、多くの場合負方向への静止電位の変

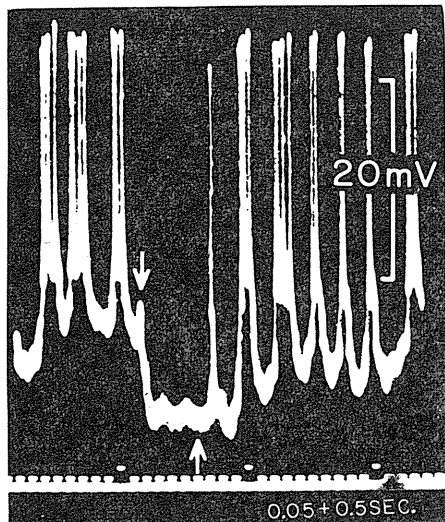


Fig. 7.

Spontaneous spike discharges on top of rhythmic slow potential changes of about 10mV. Illumination caused hyperpolarization and inhibition of discharge.

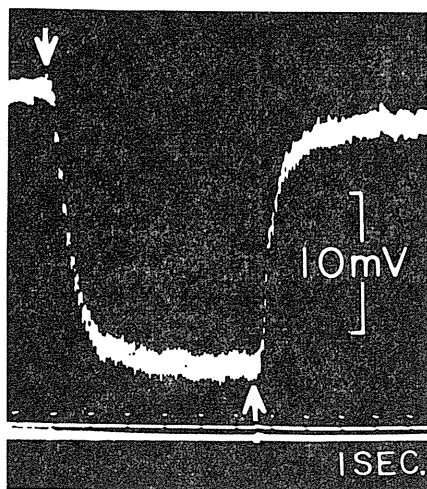


Fig. 8.

A slow negative potentials recorded from a layer deeper than those giving spike potentials.

動を伴なって記録される。この緩電位が記録されてから更に少しずつ電極を進めても、反応は急激に消失することなくかなりの範囲にわたり徐々に大きさを減じた反応が記録される事が多かった。第9図はこの緩電位について光刺激の条件を変えて得た記録である。aは直径約140 μ の微小照射を電極先端部に与えた場合、bは網膜の全面照射により記録されたものであるが、両者を比較するとbの“on”で下向きの hump が認められる以外に大差はない。cは先ず微小照射を与え、その“off”と同時に全面照射に切り換えて得た記録である。この場合も全面照射の“on”で小さな hump を認める以外に反応の差は認められない。又微小照射の位置を電極先端部位より遠ざけて行くと、反応は急激に大きさを減じ、約600 μ 離れた部位を照射した場合には第9図dの様に反応はほとんど記録出来

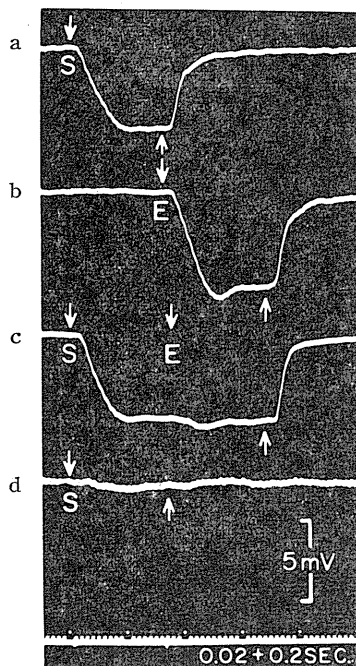


Fig. 9.

Slow negative potentials recorded during micro- and even-illumination.

a ; response to micro-illumination (S) of 140 micra in diameter, b ; response to even-illumination (E), c ; response to micro-illumination followed by even-illumination, d ; the spot of micro-illumination was moved about 600 micra from the site of recording.

なくなった。これらの事実より推して、この緩電位はかなり限局した部分より得られる反応の如く考えられるが、例数が少い為に断定を差控える。

緩電位のスペクトル光に対する態度についての詳細は検討し得なかったが、 $440\text{m}\mu$ と $610\text{m}\mu$ の単色光刺激を用いて検すると、第10図に示す様に色刺激に対して種々の態度をとる要素が見出された。これらの例のいずれもまず青色光照射を与えて、その“off”と同時に赤色光照射に切り換えて得た記録である。aは青、赤照射共負の矩形波を示すが、赤照射の方がその反応が大きい。bは青照射で負の緩電位が得られ、赤照射に切り換えた場合には位相の反転した正の緩電位が記録されている。又時にはcの様な複雑な波形を示す要素も得られた。

IV. 考 察

これまで細胞内誘導の対象となった細胞は小さくても数 10μ の大きさを有するものであった。今回著者が実験の対象とした蛙網膜組織中の各種の細胞は非常に小さく、最も大きいと思われる神経節細胞でも10数 μ の大きさを有するに過ぎない。本実験では taper の少ない電極を用いることにより細胞内誘導と考えられる各種の反応の記録に成功したが、taper の少ない電極はその先端が細いばかりでなく先端に続く部分も又十分に細い為に、これを細胞内に刺入した際にも細胞の破壊は少なく、従って小さな細胞からも安定した記録が得られ易くなったものと考えられる。

網膜の硝子体側よりこのような電極を挿入すると、網膜の比較的表層部位で前章に述べた様な第1、第2、第3の型の放電が順次記録され、それより約 40μ 深い部位よりは魚網膜のS-電位を想わせる緩電位が記録されたが、これらの反応の得られる部位の位置的関係を確認する意味で剝離網膜の視細胞側から電極を挿入してみた所、かなり深く電極を挿入して初めて先ず緩電位が記録され、それより内境界膜を突き抜けるまでの僅かな間で、上記の放電が電極を硝子体

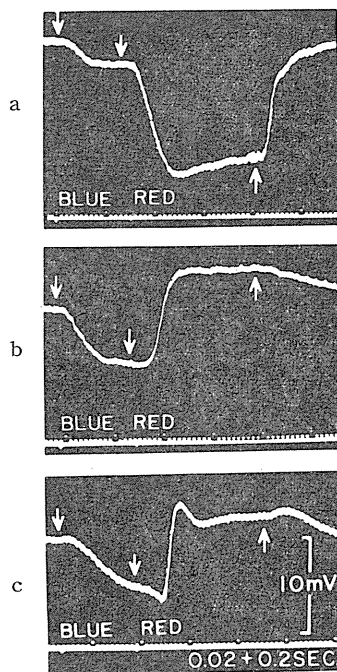


Fig. 10.

Three types of responses when the wave length of light was shifted from $440\text{m}\mu$ to $610\text{m}\mu$. a; responses to the two colored lights show the same polarity, b; they are reversed in polarity. More complicated response is shown in c.

側より挿入した時と全く逆の順序で記録された。従ってこれらの反応を示す網膜内の細胞の相対的な位置関係は確かめられたと信ずる。しかしながら電極を硝子体側より挿入した時と視細胞側より挿入した時とは、同一の型の反応が得られる深さかなりの差が認められる。従って細胞単位の反応を指標とした時には、電極挿入の深さのマイクロメーターの目盛りの読みからその反応の得られる網膜層を決定することは困難である。

脊椎動物の単一視神経線維から初めてスパイクの記録に成功したのは Hartline⁶⁾ (1938) である。彼は microdissection の方法によりこの記録を得たが、1939年には Granit & Svaetichin³⁾ が金属封入電極を用いて網膜表面よりの単一スパイクを記録している。Barlow¹⁾, Rushton¹⁰⁾, Kuffler⁸⁾, は1953年に、網膜より誘導される単

一スパイクには視神経節細胞及び視神経線維より得たと考えられる2種類のスパイクのあることを報告した。最近 Wiesel¹⁵⁾ (1959) は猫網膜に於ける細胞内誘導で、視神経節細胞から記録したと考えられる緩電位を伴ったスパイクと、速い経過を示し、微小照射を用いた場合電極部位よりかなり離れた部位に受容域の存在する、視神経線維より得たと考えられるスパイクを報告している。本実験で得た第1の型のスパイクは、Barlow, Rushton, Kuffler が細胞外誘導で、又 Wiesel が細胞内誘導で報告したのと同様に、その時間的経過が速く、且つ記録部位と照射部位が離れて存在していることの多い点から、明らかに視神経線維からの誘導であると考えられる。

第2の型のスパイクは細胞が弱まるに従ってその上昇期に明らかな2つの屈曲点と、この屈曲点の何れかに於けるインパルスのブロックが屢々認められる様になるが、Kuffler⁶⁾ は蛙網膜よりの細胞外誘導に於いて同様な屈曲点とインパルスのブロックが認められるスパイクを記録し、これが視神経節細胞より記録されたものであると述べている。又この型のスパイクはその受容域が電極を中心としてかなり広範囲を占めて居り、このことはこのスパイクの起源する細胞に、多くの受容細胞が集中的に連絡していることを示すものと考えられる。しかしこの型のスパイクが神経節細胞に由来するものか否かは、逆方向性刺激による実験によって確かめられなければならない。

第3の型では、放電が ERG と類似の波形を示す緩電位 (即ち a-波に相当する一過性の過分極と、b-, d-波に相当する一過性の脱分極) に重畳してその b-, d-波に相当する部分で発火しているが、このことは Granit⁴⁾⁵⁾ が ERG の a-波は網膜の抑制過程を、b-, d-波は興奮過程を表わす、と述べている事実によく一致する。

放電の記録される部位よりやや深い部位から誘導される放電を伴わない緩電位は、Svaetichin¹¹⁾ が淡水魚網膜より記録した所謂錐体活動電位 (S-電位) に類似の波形を示す。しかし富

田等¹³⁾によれば、所謂魚の S-電位は網膜照射面積がその振幅に大きく影響するのに反して、本実験で得た緩電位は第9図に示される様に、照射面積の変化によってその振幅がほとんど変わらない。この点より見て、蛙網膜からの緩電位は魚の S-電位とは異なる様に思われる。しかしこの点に関しては更に例数を重ねて検討の余地がある。

本実験はあくまで脊椎動物網膜に於ける細胞内誘導に関する予備実験であるが、これまで得られた結果によると、放電は膜電位の脱分極に、又抑制は膜電位の過分極に関連し、これまで他の細胞で見られた知見と矛盾する知見は見出されなかった。このことは、網膜機序の研究に対しては、不安定な細胞内誘導よりも安定な細胞外誘導により得られた放電の型から、細胞の分極状態の変化を逆に推定し得ることを示唆している。

V. 結 論

1. 蛙眼盃標本を用い、網膜の硝子体側より超微小電極を挿入して、網膜内の各種の活動電位を記録した。

2. 網膜の比較的表層部位に於いては、細胞内誘導によって得たと考えられる数種の放電を記録した。即ち、1) 網膜の最表層より誘導される視神経線維よりの放電。2) 明らかな前電位及び後電位を有する放電。3) ERG類似の緩電位を伴う放電。である。

3. 各種の放電の記録されるよりやや深い網膜層よりは、魚の所謂 S-電位に類似の緩電位を記録した。

終りに臨み御懇篤なる御指導御校閲を賜った富田恒男教授、又終始御鞭撻を戴いた植村操教授に衷心より感謝を捧げ、併せて九大理学部中研一氏並びに慶大生理学教室村上元彦講師他諸氏の御援助に謝意を表する。

文 献

- 1) Barlow, H. B. (1953) Action potentials from the frog's retina. *J. Physiol.*, **119**, 58
- 2) Brown, K. T. and Wiesel, T. N. (1959) Single

- unit activity at different levels of the cat retina. Fed. Proc., **17**, 20
- 3) Granit, R. and Svaetichin, G. (1939) Principles and technique of the electrophysiological analysis of colour reception with the aid of microelectrodes. Upsala Lakaref. Förh., **65**, 161
 - 4) Granit, R. (1955) Receptors and Sensory Perception. Yale Univ. Press
 - 5) Granit, R. (1947) Sensory mechanisms of the retina. Oxford Univ. Press
 - 6) Hartline, H. K. (1938) The response of single optic nerve fibers of the vertebrate eye to illumination of the retina. Am. J. Physiol., **121**, 400
 - 7) 小杉要治 (1960) 網膜内活動電位 (EIRG) を示標とした蛙網膜のスペクトル反応曲線 慶応医学 **37**, 667
 - 8) Kuffler, S. W. (1953) Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. J. Neurophysiol., **16**, 37
 - 9) 中 研一: (私信による)
 - 10) Rushton, W. A. H. (1953) Electric records from the vertebrate optic nerve. Brit. Med. Bull., **9**, 68
 - 11) Svaetichin, G. (1953) The cone action potential. Acta Physiol. Scand., **29**, Suppl. **106**, 565
 - 12) Tomita, T. and Torihama, Y. (1956) Further study on the intraretinal action potentials and on the site of ERG generation. Jap. J. Physiol., **6**, 118
 - 13) Tomita, T., Tosaka, T., Watanabe, K. and Sato, Y. (1958) The fish EIRG in response to different types of illumination. Jap. J. Physiol., **8**, 41
 - 14) Tomita, T., Murakami, M. and Hashimoto, Y. (1960) Studies on the R-membrane. Its localization, and relation to the ERG. J. Gen. Physiol., Suppl., **43**, Pt. 2, 81
 - 15) Wiesel, T. N. (1959) Recording inhibition and excitation in the cats retinal ganglion cells with intracellular electrodes. Nature **183**, 264

Summary

1) The electrical activities of the frog retina were studied with a superfine micro-electrode inserted vertically from the anterior surface of the retina.

2) From relatively superficial layers of the retina, several types of spike potentials were recorded intracellularly; fast spike potentials from the optic nerve fibers, slow spike potentials with pre- and afterpotentials, and spikes accompanied by an ERG-like slow potential.

3) From the region deeper than the layers giving spike activities, a large negative potential resembling the S-potential in the fish retina was obtained.

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

細胞内電極による網膜機序の研究 612.834.21

(第2報) 視神経の逆方向性刺激実験

Study of the retinal mechanism by means of intracellular microelectrodes
Part II. Antidromic stimulation of the optic nerve

猪 間 そ の (INOMA-Sono)*

I. 緒 言

最近、富田、村上及び橋本¹⁶⁾によって脊椎動物網膜に於ける ERG の主たる発生層は視細胞層よりも中枢側にあることが確認せられ、従来より視細胞説を主張して来た Brindley¹⁾²⁾³⁾⁴⁾及び Svaetichin¹⁰⁾等も又この説に同調をしめすに至り、茲に網膜電気生理学上の興味は“Mass response”としての ERG の研究から“Unit response”の研究へと進展を示す気運にある。即ち網膜を構成する個々の細胞の電氣的活動の研究、並びにそれらの活動を通しての網膜の機能的構造の究明へと向けられることになった。その為には網膜を構成する個々の細胞の反応を分離して研究する必要がある、この意味に於いて微小電極による細胞内誘導が不可欠であることは前報⁷⁾に於いても指摘した所である。

1950年に富田¹⁴⁾が初めて微小電極を網膜内に刺入して活動電位の網膜内誘導を試みて以来、網膜内微小電極法は多くの人により各種の動物で試みられて来た。しかしながらこれまで実験に用いられて来た電極は網膜細胞に刺入するには尙かなり太過ぎ、その為に脊椎動物網膜に於ける細胞内誘導に関する研究はほとんど皆無である。私⁷⁾は先に脊椎動物網膜に於ける細胞内誘導に関する予備実験として、蛙眼盃標本を用い、中¹²⁾の方法によって作製した極めて細い電極を網膜内に挿入して、細胞内から誘導されたと考えられる数種の反応について報告した。しかしながらこれらの反応が網膜内の如何なる細

胞より誘導されたものであるかに関しては、視神経線維より誘導されたと考えられる放電の他は明確な結論に到達し得なかった。この点を解明する1つの手段として考えられるのは組織学的方法であろう。網膜内に刺入した電極先端の位置する網膜組織にマークを印し、このマークを連続組織切片とした標本から検出して電極先端位置を確認しようとする方法は、既に ERG や魚の所謂 S-電位発生層追求の実験で、富田等¹⁵⁾、橋本⁶⁾、本川等¹³⁾、御手洗¹¹⁾、および MacNichol等⁹⁾により試みられている。しかしながら前報に述べた様に、細胞単位の反応を示標とした場合には電極挿入の深さからその反応の得られた細胞の種類を決定することは困難で、例えば上記組織学的方法にしても電極の挿入された細胞1個をマークし得る所まで方法が進歩しない限り、現段階での組織学的方法で細胞の同定を行なうということは尙不可能であるといえる。

所で今光刺激に応じて網膜内から誘導記録された放電が若しも視神経線維に直接連絡する細胞体、即ち神経節細胞に由来しているのであれば、視神経線維に与えた刺激によって生じた逆方向性興奮は、当然当該神経節細胞内に置かれた電極で記録されるはずであり、又若しも逆方向性刺激によって何等の反応も記録し得ないならば、それは視神経線維とはシナプスを介する等、直接連絡のない別種の細胞から誘導された放電と考えなければならない。

私は今般、蛙及び鮪の眼盃標本を用い、光刺激に応じて網膜内より細胞内誘導によって得られる各種の放電が、網膜視神経乳頭部に与えた逆方向性刺激によっても誘起し得るか否かを検

* 慶応義塾大学医学部眼科学教室

慶応義塾大学医学部生理学教室

[昭和35年9月21日受付]

討すると共に、逆方向性刺激によって得た放電の性質についても考察を試み、2, 3の知見を得たので此処に報告する。

Ⅱ. 実験方法

実験には食用蛙 (*Rana catesbiana*) および魴 (*Cyprinus auratus*) の眼盞標本を用いた。標本に硝子体が残存すると、電極挿入の際その先端を損傷したり、網膜内での電極の固定が不安定になる等の恐れがあるため、出来るだけ硝子体を除去する必要がある。食用蛙では硝子体の粘稠度低く前報に記述した如く“Kleenex”で十分に吸収除去し得るが、魴では粘稠度が高い為此の“Kleenex”法は全く無力であった。しかしながら注射器で軽く吸収しながらその先端を硝子体内で静かに動かしていると、硝子体が一塊として剝離除去されることを見出し、魚眼には以後専らこの方法を用いた。この様にして作製した標本は、乾燥によって生ずる硝子体の被

膜で網膜表面が覆われることが無いので電極先端の破損が少なく、且つ網膜に対する酸素供給が充分に行なわれる結果、長時間の実験に供し得た。

刺激電極としては同心型銀芯電極を用いた。不関電極として用いた銀板上に Ringer 氏液を浸した“Kleenex”を輪状に置き、その上に眼盞標本を安定よくのせた後、標本の乳頭上に上記刺激電極を接置し、電子管刺激装置より、0.1 msec のパルスを送って乳頭部に於いて視神経を刺激した。なお刺激電極先端は乳頭を充分覆い得る広さとした。

光刺激としては白色光による網膜の全面照射及び部分照射を用いた。

記録電極は網膜の硝子体側より垂直に挿入した。刺激電極に与えるパルスの記録電極への影響を除く為に、両者間に遮蔽板を設けた(第1図参照)。

用いた記録電極は 3 M-KCl を充填した硝子毛細管電極で、第2図は 3 M-KCl 充填前に撮った電極先端部位の電子顕微鏡写真の1例である(中、富永両氏の御厚意による)。この図に見られるように taper の少ないことがこの電極の特色で、その先端も 0.1μ 以下であり、3M-KCl 中で測定した抵抗値は $200M\Omega$ 前後であった。電極素材として前回の実験では柴田化学工業の SB-24 を用いたが、今回の実験では更に硬質のテレックス(東芝商事)を用いて良好な結果を得た。電極作製法については前報に詳述したので略する。電極の高抵抗による入力時定数の増大を補償するため、一部の実験では負容量の適正な feed back をかけた。

実験は主として室温 10°C 乃至 15°C に於いて行なわれた。用いた光刺激、並びに記録装置は前報と同様である(小杉⁸⁾参照)。

Ⅲ. 実験成績

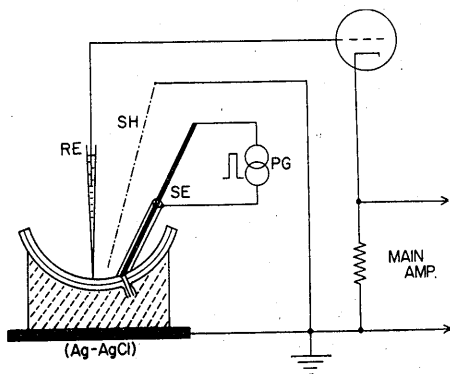


Fig. 1.

Arrangement for antidromic stimulation and recording. RE; recording micropipette electrode, SE; stimulating coaxial needle electrode on the optic disc, PG; isolating square pulse generator, SH; shielding metal plate.



Fig. 2.

Electron-microscopic photograph of the tip of a pipette, showing average shape and size (by courtesy of Naka and Tominaga).

1. 蛙網膜

前報に述べた如く、蛙網膜内より細胞内誘導によると考えられる性質の明らかに異なる数種の放電が光刺激に応じて記録されるが、現在までに得られた結果ではこれらの放電はすべて視神経乳頭に与えた逆方向性刺激によっても誘導され、これらの放電の記録されるより深部から誘導される所謂魚のS電位に類似した緩電位は、逆方向性刺激によって何等の影響を受けなかった。

網膜の硝子体側より微小電極を挿入して行く時最も表層で記録される放電は、第3図に示すように光刺激の on (図左上), off (左下) 或いは on-off に反応する時間的経過の速い放電である。この型の放電は明らかな緩電位を伴わず、又その受容域が記録部位よりかなり離れた

部分に存在することが多いことよりして、視神経線維の活動に由来すると考えられることは前報に述べた。図の右側の記録は左側の記録を得たと同じ要素の逆方向性刺激に応じた放電である。この記録で特異なことは、この明らかな視神経線維より誘導されたと考えられる放電の記録網膜部位と、逆方向性刺激の与えられる網膜乳頭の距離が僅かに数mmであるにも拘わらず、放電の潜時が極めて長い (2-3 msec) ことである。この記録のみでなく、一般に蛙網膜に於いては逆方向性刺激に応じた視神経線維の放電はすべて潜時が長く刺激の強さを如何に変えてみても潜時の著明な短縮はみとめられなかった。なお第3図の記録に際しては入力容量の補償を行っていないので、記録された放電の波高並びに形は補償を行なった場合に較べて可成り異なっているが、潜時の読みに対する影響は比較的軽微で、従ってこのことが見掛け上の潜

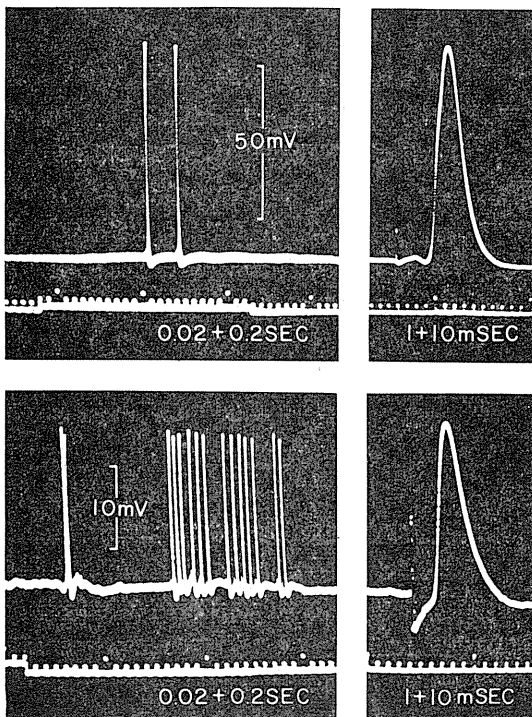


Fig. 3.

Responses of optic nerve fibers (frog), showing an on-type (upperleft) and off-type response (lower left) to photic stimulation. Impulse spikes on the right were elicited by a coaxial stimulating electrode on the optic disc (see Fig. 1). No compensation of the input capacitance was made.

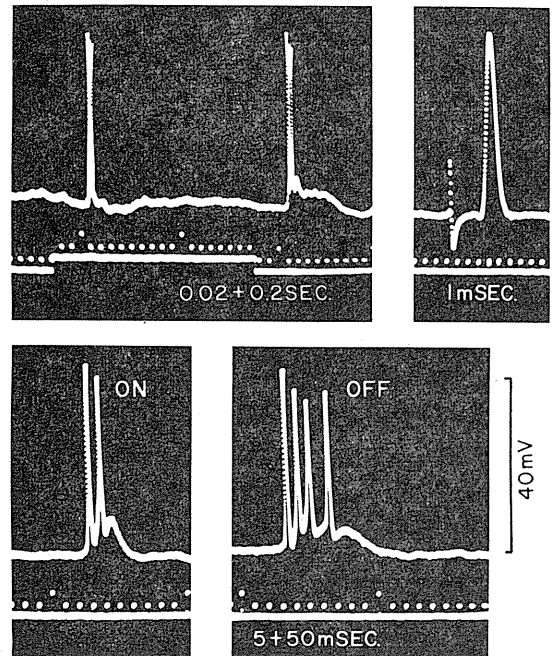


Fig. 4.

On/off-type response with spikes superimposed on an ERG-like slow potential (frog), at a slower sweep (upper left) and faster (lower). An impulse spike on the upper right was elicited by antidromic stimulation. The input capacitance was compensated for these recordings.

時の延長をもたらしたのとは考え難い。なお補償の有無による波形の違いについては第5図を参照されたい。

視神経線維よりの放電が記録される深さから更に電極を進めて行くと、暫らく何等の放電も記録されぬ層を通過した後に、著明な緩電位を伴った放電が得られる。第4図は光刺激の on, off に反応して得られた放電の記録であり、放電は ERG 類似の緩電位に乗って現われている。この型の反応は蛙網膜に於いては比較的屢々認められ、又一旦細胞内に電極が挿入されると反応はかなり長時にわたり安定に記録されることが多かった。図の左上の記録は光刺激に応じて記録された放電で、下はそれを Braun 管の掃引を速めて記録したものである。右上図は同じ要素に逆方向性刺激を与えて得た放電の記録で、図から明らかな様にこの型の放電も又その潜時は長く、しかも先に述べた視神経線維に由来する放電と略々等しい潜時を示している。

第5図はこの型の放電について入力補償を行った場合(上図)と補償を行わない場合(下

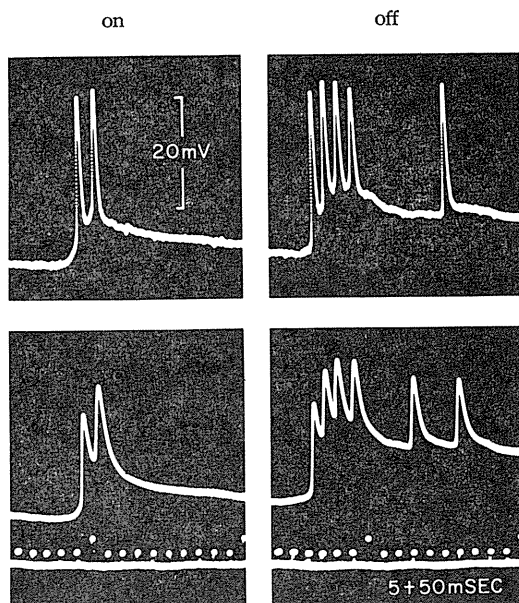


Fig. 5.

Response similar to Fig. 4 obtained from the frog with (upper) and without compensation of input capacitance (lower).

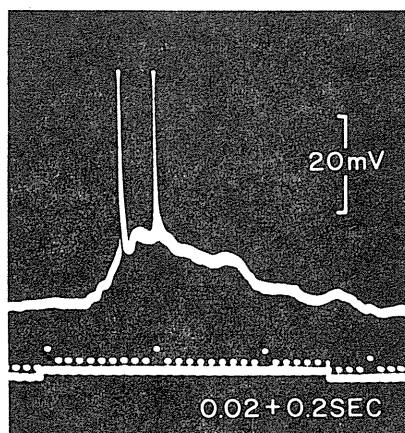


Fig. 6.

On-type response with spikes superimposed on a slow depolarizing potential, obtained from the frog. Without compensation of input capacitance.

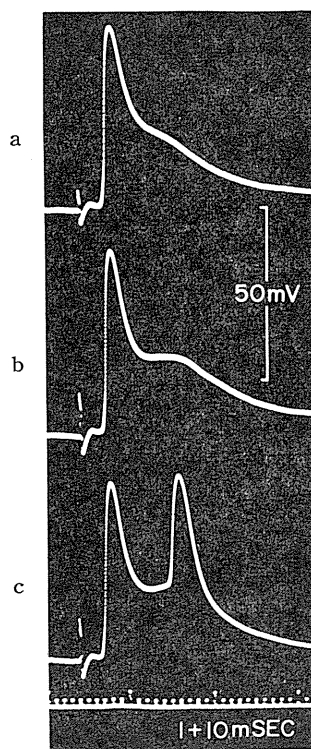


Fig. 7.

Three antidromic impulses from the same neuron whose response to light is shown in Fig. 6. Without compensation of input capacitance.

図)とを比較したものである。両者の波形を比較するに、補償を行なわない場合には補償を行なった場合に比してその振幅は略々半分に近く、又放電の持続は勿論長く記録されている。従って当然予想される所ながら、本実験で使用了様な高抵抗の電極を用いた場合には、補償を行なわない限り放電についてその振幅や時間的経過を云々することは適當ではない。

上記の様な ERG 類似の緩電位を伴う on-off 放電の他に、第6図に示す様な on 放電だけを示すものも記録される。第7図は乳頭部視神経線維に逆方向性刺激を与えた時に第6図を得たと同じ単位から得られた記録である。図のaでは放電の下降期に軽い隆起が認められるが、一般に刺激間隔を縮めるとこの隆起は不明瞭になり、単一刺激で著明になる(b)。時にはcの様にこの隆起の頂点から第2の放電が現われる。この様な単一刺激に対する反復興奮は、電極が

細胞内に挿入されてからかなりの時間を経過した後、即ち細胞が弱ったと思われる状態に於いて現われるものの如くである。因みにこの例に於ける放電の潜時も又約 3 msec に及んでいるのが観察される。

更に緩電位を伴う放電として第8図に示す様な off 放電も記録される。この型の放電も又逆方向性刺激に応ずる。

2. 鮪網膜

鮪の眼盞標本を用いて蛙と同様にその硝子体側より電極を挿入して細胞内誘導を試みた。鮪に於いては硝子体を硝子体膜も含めて網膜より剥がし取り網膜表面が露出している為に、電極を硝子体側より挿入する時、網膜表面に電極が下ろされると直ちに放電が記録されることが多い。網膜の最表層で記録される放電は、蛙と同様に受容域その他の点より推して視神経線維より誘導されたものと考えられる。第9図の上図

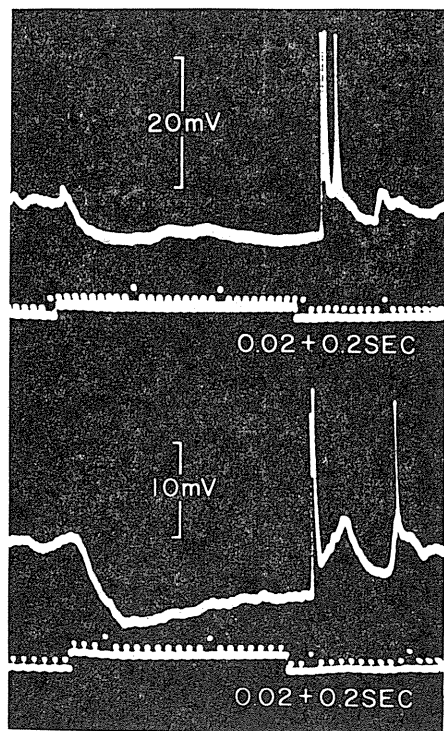


Fig. 8.

Off-type responses on a slow hyperpolarizing potential (frog). Without compensation of input capacitance.

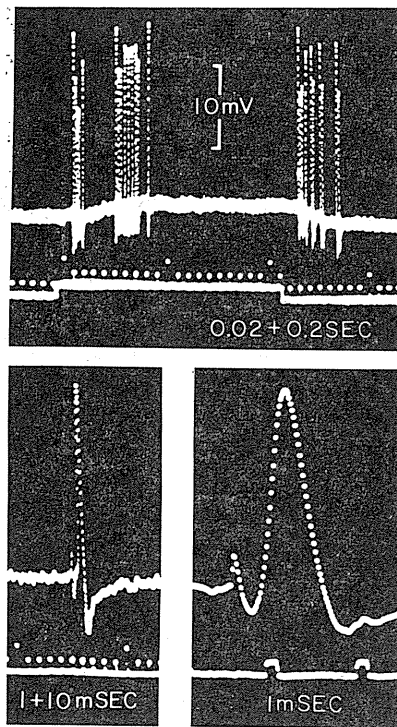


Fig. 9.

Response of optic nerve fiber of the fish to photic stimulation (upper). Antidromic impulses are shown at a slower (lower left) and faster sweep (lower right). With compensation of input capacitance.

は光刺激の on-off に反応したこの型の放電の記録であり、下図はこれに逆方向性刺激を与えて得た記録である。図に見られる様に鮪の放電はその時間的経過が極めて速い。前述の如く蛙網膜に於いては逆方向性刺激で得られる放電の潜時はいずれも2乃至3 msec に達するのに反し、鮪網膜に於いては蛙と全く同一条件下に実験を行なっているのに拘らずその潜時は常に1 msec 以下であった。又放電の得られる閾値も蛙に比して鮪ではかなり低い。

鮪網膜では視神経線維より誘導されたと考えられる放電で、on, off, 又は on-off に反応するものの他に、暗順応状態に於いて常に自発的な放電を示して居り、光刺激を与えると光刺激の持続している間放電の抑制される純抑制型も屢々記録された。

鮪網膜に於いて特異なことは、蛙網膜に於いては屢々認められしかも比較的安定に記録される ERG 類似の緩電位を伴った放電がほとんど記録されないことである。時にこの型の反応で放電が脱落したと考えられる緩電位のみを記録することはあるが非常に稀で、又反応が記録されても細胞の破壊が早い為か安定な記録はほとんど得られず、従ってこの型の放電にたいする逆方向性刺激の効果については検討し得なかった。

上記の型の反応が得られる深さから更に少しく電極を進めると S-電位が記録されるが、今回の実験に用いた様な細い電極を用いれば、S-電位はほとんど毎常電極挿入の度に安定にしかも時には 50 mV にも達する大いさで記録された。なお逆方向性刺激は S-電位に対しては何等の影響も与えなかった。

Ⅳ. 考 察

Brown & Wiesel⁵⁾ は1959年に、猫の眼球を切開することなしに鞏膜を貫いて中空針を硝子体中に先ず刺入し、これを導管として網膜内に微小電極を挿入して単位放電を多くは細胞外誘導により記録し、その放電の起源する細胞について主として網膜組織像と電極挿入の深さの関

係から考察を加えている。彼等は網膜の表層部で記録される放電を神経節細胞又は視神経線維より記録された反応とし、これら一群の放電が記録されてから暫時放電の記録されぬ層を距てて両極細胞層よりの放電が再び記録されると報告している。彼等が両極細胞層より得たと考えている放電は、それが記録される深さ等より推して、私の得た緩電位を伴う放電に相当するものと思われる。彼等の記録では明らかな緩電位が記録されていないが、これは彼等の記録が細胞外誘導であった事によるものと考えられる。彼等はこの型の放電の得られる細胞が両極細胞層内にあると主張する根拠として、次の4点を挙げている。1) 網膜組織像を見ると神経節細胞は一層に疎らに存在するのみであり、電極の1回の挿入で2段にわたって放電が記録されるなら、2段目に記録された放電は両極細胞層より得られたものと考えられる。2) この型の放電の得られた層では既に ERG の b-wave の逆転がみとめられる。3) 両極細胞層の厚さは約 20 μ であるが、この型の放電が得られてから電極が内顆粒層の外境界を突き抜けるまでの距離は 20 μ 以下である。4) この型の放電は網膜表面に電極がついてから 40 μ 以上電極を挿入した深さで記録され、この深さは網膜組織像よりする両極細胞層に一致する。以上彼等が両極細胞層内の細胞から記録したと信ずる放電は、その深さから判定して私の述べた緩電位を伴う放電と同一のものと思われる。只網膜内への電極を挿入した深さからその反応の得られた細胞の種類を決定することの困難性については再三指摘した所で、特に網膜内細胞が電極の先端で圧せられた時にどの位移動して初めて電極が刺入されるか、即ち網膜内細胞の可動性についての吾々の知識は今日極めて貧困である。しかしながらある単位の放電が細胞外で検出し得てから電極を50乃至100 μ 進めて初めて細胞内に電極が刺入されることは度々経験するところで、従って個々の細胞の可動性はかなり大きいものと推定される。この意味に於いて、誘導中の細胞の種類を深さから推測するよりも、

逆方向性刺激が有効か無効かから判定する生理学的方法の方が信頼度が一層高いと考えられる。この型の放電は第4図に示した様に明らかに乳頭部位の電気刺激に応ずる。そしてこのことは、この型の放電の由来するのは視神経線維に直接連なる神経節細胞であることを示唆するものである。しかし逆方向性刺激に応ずる放電の潜時が2乃至3 msecを要する点より見て、その刺激が果して真の逆方向性刺激として作用しているか否かにつき検討する必要がある。逆方向性刺激によって発火する場所が刺激の与えられる乳頭部位の視神経線維であるならば、この様に長い潜時は現在の生理学的常識では理解し難く、何らかの別の経路、例えばシナプスを介した後の効果ではないかとの疑問を抱かせる。しかしながら網膜の最表層で記録され明らかに視神経線維に由来すると考えられる放電も、蛙に於いては第3図に示した様に緩電位を伴う放電の潜時と略々等しい2乃至3 msecの潜時を示している。又他方に於いて網膜自体が電気に対する感受性の高い事実から、逆方向性刺激として与えた種々のパルスが刺激部位下の神経線維に対して有効となるよりも弱い強度で電流滑走により誘導電極下の網膜を直接刺激興奮させ、そのことがこの様な長い潜時の原因ではないかという疑問も生ずるが、若しもその様に仮定した場合には、刺激電極下の神経線維に直接有効となる逆刺激を更に強めれば潜時の飛躍的な短縮が認められるはずであるのにこの様な短縮が一切認められなかったことから、この疑問は否定され得る。更に電極を置いている網膜乳頭部に何等かの形で障害を与えた場合、例えば直流通電を行ないその部に生じた電気分解産物で局所障害を起させると、それまで乳頭部に対する刺激により誘起せられていた放電が瞬時にして記録されなくなる事も又、逆方向性刺激が明らかに乳頭部より発火して伝導しているものであることを示している。蛙と全く同一条件下で実験を行なったのにも拘わらず、鮪網膜に於いて記録した逆方向性刺激による放電の潜時は常に1 msec以下であった。両者の潜時の

相違を視神経線維の相違、例えば髓鞘の有無の如きで説明することも十分ではなく、矢張り蛙網膜に於ける潜時の延長は何等かの不明の原因によって惹起される乳頭部位に於ける興奮遅延によるものと考えざるを得ない。

又もう1つ別の可能性として、逆方向性興奮と考えられるこの型の放電が実は視神経中の遠心性線維の興奮によって間接的に生じたもので、第7図に記録した放電の下降期に見られる隆起はシナプスを介する時のEPSPに相当するものではないかとの疑問も生ずるが、刺激の強さを如何に変えて見てもこの隆起のみを分離して記録することは出来なかった。

以上種々なる点に検討を加えた結果より考えて、著明な緩電位を伴う放電は両極細胞ではなくて視神経節細胞から得られたものであると考えて間違い無い様に思われる。しかしながらこの型の反応が鮪では非常に記録されにくいという事を念頭に置いて鮪と蛙の網膜組織像を比較して見ると、視神経節細胞層では両者にほとんど差が認められないが、両極細胞層では蛙に比して鮪では細胞数が著るしく少ないことが認められ、この点なお疑問の余地が残される。今後この点を解決するためには各種の動物を用いて実験を行ない、上記各種の反応の得られる頻度や性質とそれらの組織像とを比較検討すると共に、単一細胞に何等かの方法でマークを印すことの出来るような組織学的方法の発展が望まれる。

V. 結 語

1. 蛙及び鮪の眼盂標本を用い、網膜内に超微小電極を挿入して光刺激及び網膜視神経乳頭部に与えた逆方向性刺激に応ずる各種の放電を記録した。

2. 蛙網膜に於いては光刺激に応じて記録される放電は逆方向性刺激によっても誘起せられ、その潜時は視神経線維よりの放電も又それよりも深部で記録される緩電位を伴った放電も一様に2乃至3 msecを示した。

3. これに反して鮪網膜に於いては逆方向性

刺激により誘起される視神経線維放電の潜時は常に 1 msec 以下であった。これよりも深部からの緩電位を伴う放電は鮎では殆んど記録せられず、従ってこれに就いての逆方向性刺激の効果の観察は行ない得なかった。

4. 記録された限りの光刺激に反応する放電が逆方向性刺激にも又応ずるとの実験成績から、それらが凡て神経節細胞の活動に由来するとの一応の結論に到達した。

終りに臨み御指導御校閱を賜った富田恒男教授、又終始御鞭撻を戴いた植村操教授に深甚なる謝意を表し、併せて御協力を戴いた九大理学部、中、富永両氏、並びに生理学教室員各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Brindley, G. S. (1956) The passive electrical properties of the frog's retina, choroid and sclera for radial fields and currents. *J. Physiol.*, **134**, 339
- 2) Brindley, G. S. (1956) The effect on the frog's electroretinogram of varying the amount of retina illuminated. *J. Physiol.*, **134**, 353
- 3) Brindley, G. S. (1956) Responses to illumination recorded by microelectrodes from the frog's retina. *J. Physiol.*, **134**, 360
- 4) Brindley, G. S. (1960) Physiology of the retina and visual pathway. Monographs of the Physiological Society, No. 6, London
- 5) Brown, K. T. and Wiesel, T. N. (1959) Intraretinal recording with micropipette electrodes in the intact cat eye. *J. Physiol.*, **149**, 537
- 6) 橋本葉子 (1960) 網膜活動電位 (ERG) の発生層に

関する電気生理学的組織学的研究 *日本生理誌* **22**, 171

- 7) 猪間その (1960) 細胞内電極による網膜機序の研究 (第1報) 異った深さから得られる数種の活動電位について *日本生理誌* **22**, 1128
- 8) 小杉要治 (1960) 網膜内活動電位 (EIRG) を示標とした蛙網膜のスペクトル反応曲線 *慶応医学* **37**, 667
- 9) MacNichol, E. F. Jr., Macpherson, L. and Svaetichin, G. (1957) Studies on spectral response curves from the fish retina. Symposium on visual problems of colour at National Physical Lab. Teddington, Middlesex, England, Paper **39**
- 10) MacNichol, E. F. Jr., and Svaetichin, G. (1958) Electric responses from the isolated retinas of fishes. *Am. J. Ophthalm.*, **46**, No. 3, Part II, 26
- 11) Mitarai, G. (1958) The origin of the so-called cone action potential. *Proc. Jap. Acad.*, **34**, 299
- 12) 中 研一: (私信による)
- 13) Oikawa, T., Ogawa, T. and Motokawa, K. (1959) Origin of so-called cone action potential. *J. Neurophysiol.*, **22**, 102
- 14) Tomita, T. (1950) Studies on the intraretinal action potential. Part I. Relation between the localization of micro-pipette in the retina and shape of the intraretinal action potential. *Jap. J. Physiol.*, **1**, 110
- 15) Tomita, T., Murakami, M., Sato, Y. and Hashimoto, Y. (1959) Further study on the origin of the so-called cone action potential (S-potential). Its histological determination. *Jap. J. Physiol.*, **9**, 63
- 16) Tomita, T., Murakami, M. and Hashimoto, Y. (1960) On the R-membrane in the frog's eye. Its localization, and relation to the retinal action potential. *J. Gen. Physiol.*, Suppl., **43**, Part 2, 81

Summary

1. Using the opened eye of the frog and fish, the optic nerve was stimulated with a coaxial needle electrode on the optic disc and the effect was examined with a micropipette electrode placed within retinal cells.

2. In the frog retina, the cells which responded to photic stimulation with spike discharges were found to also respond to antidromic stimulation but with a latency of 2-3 msec.

3. In the fish retina, almost all the intracellularly recorded spike discharges originated from optic nerve fibers. They responded to antidromic stimulation with a latency less than 1 msec. Discharges from deeper layers were seldom observed.

4. It was tentatively concluded that only cells in the retina which respond with impulses are the ganglion cells.

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

会 報

本会特別会員越智真逸君は昭和35年11月11日逝去せられました。慎んで哀悼の意を表します。

総会並びに地方会の演題申込みについてのお願い

総会並びに地方会に於ける演題申込みは、本会の規定により本会々員に限られております。従って未入会の方は演題申込み前に入会申込書（入会には本会評議員1名の紹介を要します）に当年度の会費 1,000 円をそえて下記に申込んで下さい。

日本生理学会々費納入のお願い

昭和35年度会費（1,000円）未納の方は至急お払込み下さい。

お払込みは必ず書留又は振替で（用紙は22巻2号に添附）をお願いします。

尙34年度の会費未納の方は特に至急お払込み下さいますよう重ねてお願い致します。

東京都文京区本郷局区内

東京大学医学部生理学教室

日 本 生 理 学 会

振替口座 東京 86430 番

電話 921局 {3151
2121} 構内 6325