

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

原 著

| | |
|--|-----|
| 岡田勝喜：筋変性法により発生する終板電位について（I. 季節の影響）…………… | 121 |
| 中村治雄：マウス Tumor cell の Cholesterol の生合成…………… | 127 |
| 青山新吾：輸卵管，輸卵管網膜及び子宮の求心性神経支配について…………… | 130 |
| 下河内稔：頻度特異波の条件付け…………… | 149 |
| 山口雄三：辺縁系電気刺激による条件付けの研究（その1）海馬低頻度刺激による紡錘波の条件付けについて…………… | 163 |

地 方 小 学 会 報

| | |
|---------------------------|-----|
| 第140回生理学東京談話会…………… | 173 |
| 第141回生理学東京談話会…………… | 175 |
| 第13回日本生理学会中国・四国部会（1）…………… | 178 |

Originals

| | |
|--|-----|
| OKADA-Katuki : On the end-plate potential caused by muscle degeneration —“The degenerated muscle method” (I) Influence of seasons …………… | 121 |
| NAKAMURA-Haruo : Cholesterol biosynthesis in mouse tumors…………… | 127 |
| AOYAMA-Shingo : The afferent innervation of the oviduct, mesotubarium and uterus…………… | 130 |
| SHIMOKŌCHI-Minoru : Conditioning of frequency characteristic repetitive response…………… | 149 |
| YAMAGUCHI-Yuzo : Conditioning of limbic system stimulation effect. 1. Conditioning of spindle burst discharges induced by low frequency stimulation of dorsal hippocampus…………… | 163 |

附：会報

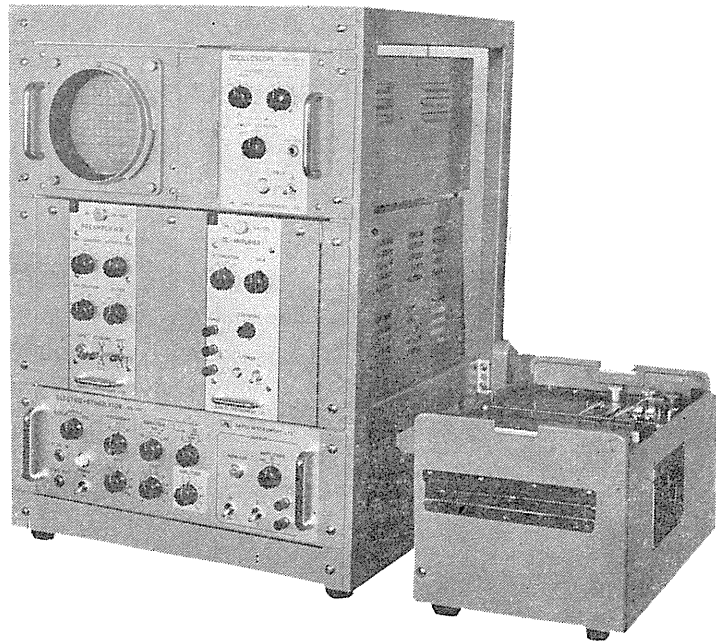
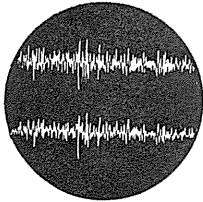
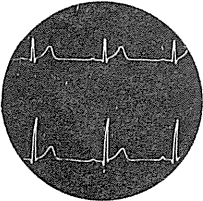
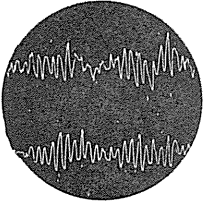
| | |
|--------------------|-----|
| 会員の訃報…………… | 180 |
| 正誤表（第24巻1-2号）…………… | 180 |

日 本 生 理 学 会

生体電気の研究に 学生実習用に

電気生理用実験装置

新製品



- 脳波、心電図、筋電図などの測定に、または電気刺激による生体現象の測定に
- 増巾器、刺激器、ブラウン管装置はラックパネル式構造
記録装置はインク書き式で適宜組合せられる
- 操作簡便、構造堅牢
- 価格低廉

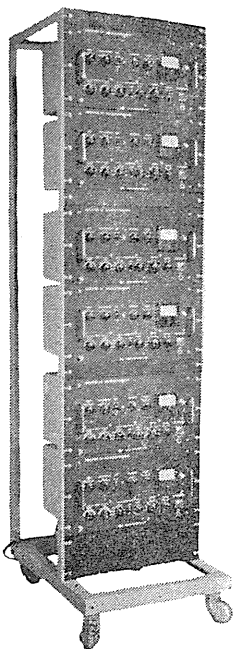
生体電気現象測定用増巾器

EB-101-Y 型

- ラックパネル式構造
- 脳波、心電図、筋電図はもとより皮膚電気反射、呼吸曲線、指尖脈波等も測定できるポリグラフ用の増巾器

主要製品

脳波計・脳波分析装置・筋電計・アネロケータ・ニスタモグラフ・電気刺激装置・インク書き式オシログラフ・電磁オシログラフ・ブラウン管連続撮影装置・直流増巾器



販売元 **三栄測器商行株式会社**
東京都新宿区 柏木 1-95 Tel (371) 7117~8・8114~5

製造元 **三栄測器株式会社**
三栄レコーダー製造株式会社

筋変性法により発生する終板電位について 612. 815. 2 : 612. 748. 5 : 612. 59. 074

(I. 季節の影響)

On the end-plate potential caused by muscle degeneration—
“The degenerated muscle method”
(I. Influence of seasons)

岡田 勝喜 (OKADA-Katuki)*

When the sciatic nerve-sartorius preparation of the toad was bathed in Ringer's solution at low temperature for a long time, the neuromuscular transmission became blocked and the end-plate potential could be measurable by using the separated box.

The author proposes to name this new method of blocking the neuromuscular transmission “degenerated muscle method”, because the muscle seemed to be degenerated.

Later it was found that this method was successful in winter, but not in summer except when the toad was kept in low temperature for several days.

The reason of the seasonal difference is discussed in some detail.

I. 緒言

end-plate potential (e. p. p.) を観察記録出来る条件として, e. p. p. の減少と筋の興奮性の低下が挙げられるが, 何れにしても筋働作流が消滅し, 而も e. p. p. は尚存在する状態であればよいわけである¹⁾²⁾.

蟾の神経筋標本を単に Ringer 氏液中に保存するだけでも間接刺激によって筋働作流は発現しなくなり e. p. p. が観測出来る状態になる事実がある³⁾⁴⁾. 即ち所謂接合部の遮断が起るわけであるが, 此の現象は冬期比較的室温の低い条件の実験で発見された. 併し同様な実験を夏期比較的高い室温で行なうと様子がかなり異って居て, 蟾の神経筋標本は斯る条件によって e. p. p. が観察される状態には比較的なり難い.

斯の如く季節によって Ringer 氏液中で自然に起る所謂神経筋接合部遮断の生起に難易がある事実を発見したので, 冬期と夏期の成績を比較して其の接合部遮断の起る経過を詳しく観察し, 遮断が起る機序に就て考察を試た.

II. 材料及方法

蟾の坐骨神経縫工筋を切り出して其の筋及び

神経を数室に隔絶して横たえ, 間接刺激によって発生する電位を観測した. 詳細は先に発表した⁵⁾. 此の方法によると神経の働作電位も同時に観測出来る利がある. ここで冬期とは12月-3月, 夏期とは6月-10月の間で室温は夫々10°C前後, 25°C前後で実験を行った.

III. 実験成績

1) 冬期に於ける接合部遮断

神経筋標本を隔絶箱に横たえ, 其の外液を Ringer 氏液或は等張食塩水とする. 斯る状態のまま間接刺激によって発現する神経働作電位, 筋働作電位, 及 e. p. p. を24時間以上に渡って連続観測した. 勿論周囲の Ringer 氏液或は等張食塩水は適宜更新し又等張 CaCl₂ 水溶液を作用させて e. p. p. の回復増大をはかった.

Fig. 1 は其の成績で第1列から第4列へ, 上から下の順に記録してある. 図中に記入してある時間は第1列最上位の記録後経過した時間を示し, () 内の+, 一等の記号は其の時肉眼で観察した筋の動きを表わして居る.

実験開始時には筋は力強く収縮し筋働作流が現われて居るが, 約7時間経過した頃は筋働作流と思われる電位変化は殆んど認められないのに筋は未だ明らかに動いて居るのがみとめられた. 斯る状態では電位変動の形だけで e. p. p. と定めるわけには行かない. 9時間以上経過し

* 鳥取大学医学部第1生理学教室 (山田 守教授)
1st Dept. of Physiol., Tottori Univ. School of Med.
〔昭和36年10月17日受付〕

た後は筋の動きは殆ど認められない状態で、この時発現して居る電位変動は終板より発生したものと認めてよさそうである。以下の記録は翌日になるわけであるが、23時間後電位は殆ど認められない位迄減少した。此の時毎秒10回の頻数刺戟を与えると(第1列, st. 10/secの印)、電位は若干増大し而も筋の動きは全く認められないから此の電位は e. p. p. と考えられる。23時間30分経過後外液を等張の CaCl_2 水溶液に更えて5分後 e. p. p. は明らかに増大し、又毎秒10回の頻数刺戟で(第2列, st. 10/secの印)電位は著しく増大し、その頻数刺戟を止めて暫くすると電位は元にもどった。この時筋の動きの状態から見ても、此の電位は e. p. p. と見てよさそうである。外液を等張 CaCl_2 水溶液にして10分経過後、等張食塩水に取り更えと(23時間40分後)、5分後電位は著しく増大した。此

の時も筋の動きは全く認められなかったから、此の電位は e. p. p. と認めてよい。此の時毎秒10回の頻数刺戟により電位は増大するが、筋の動きは全く認められないのに後電位に若干変化が現われて居り、此の変化の解釈は難しいようである。

外液を等張食塩水に更えてから時間の経過と共に e. p. p. は増大し、次いで減少し、24時間40分後(外液を等張食塩水に更えて1時間後)毎秒10回の頻数刺戟により(第3列, st. 10/secの印)先に現われた後電位の変動は起らなかった。以後25時間40分後(外液を等張食塩水に更えて2時間後)迄 e. p. p. は次第に減少した。

其の後外液を再び等張 CaCl_2 水溶液に更えると電位は初め増大し、後漸減して26時間50分後(等張 CaCl_2 水溶液に更えて1時間)後には電位は殆ど認められない位迄減少した。其の間毎

秒10回の頻数刺戟により(第4列, st. 10/secの印)電位は増大し、而も後電位に変動が認められなかった。

実験開始より此の間神経の働作電位の大きさには殆ど変化が認められなかった。

以上の成績を見ると冬期蟄の神経筋標本は切り出して室温 10°C 前後で Ringer 氏液或は等張食塩水中に長時間保存すると間接刺戟によって筋働作流は発現しなくなり、e. p. p. が観測出来る所謂接合部遮断の状態になる。此の時肉眼的に見た筋は白く混濁し、筋長は少し短くなって居た。

2) 夏期に於ける接合部遮断

上記成績のように冬期では神経筋標本を、Ringer 氏液中に保存するだけで接合部の遮断が起って e. p. p. が観測出来る状態になる。所が夏期ではそのような方法では e. p. p. の観察は

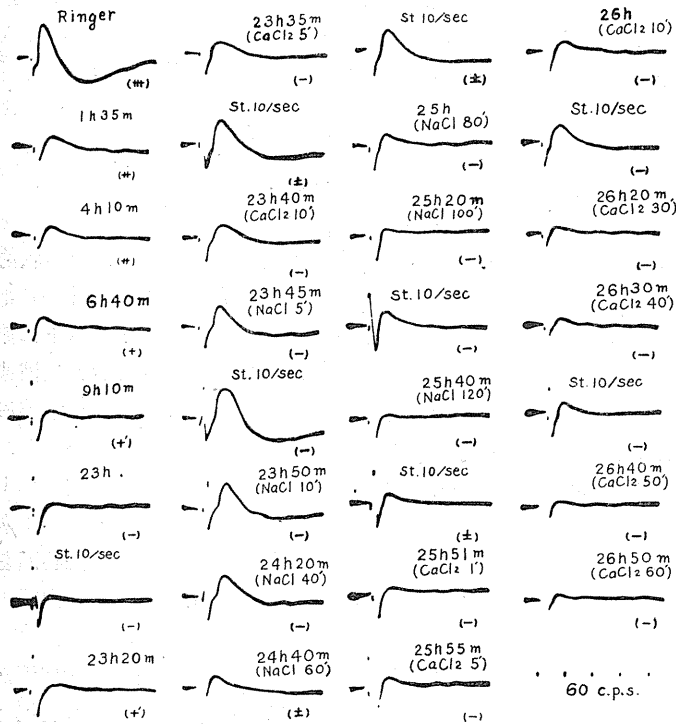


Fig. 1.

Blocking of neuromuscular transmission. Toad in winter. Time is indicated from the start of the experiment. The bathing Ringer's solution was replaced by isotonic NaCl or CaCl_2 solution during the experiment.

仲々難しい。即ち e. p. p. が減少して筋働作流が消失する時期になると e. p. p. も非常に微弱になって、其の電位を計測する事は殆ど不可能の状態になってしまう。換言すれば筋働作電位と e. p. p. との分離が著しくないと云える。依って温度の影響に注目して次の如き実験を行った。

a) 神経筋標本の低温保存 (10°C 前後)

神経筋標本を切り出して Ringer 氏液中で 10°C 前後の氷室に 5 日間保存した後実験を行った。斯る標本の外液を種々取り更えて観察した成績が Fig. 2 である。図の上から下の順に記録してあり、図中 CaCl₂ 5' 等と記入してあるのは等張 CaCl₂ 水溶液等に更えてから 5 分間経過した時の状態の記録で、外液は次々に連続して取り更えられた。外液を等張 CaCl₂ 水溶液にして後 Ringer 氏液或は等張食塩水に更えると

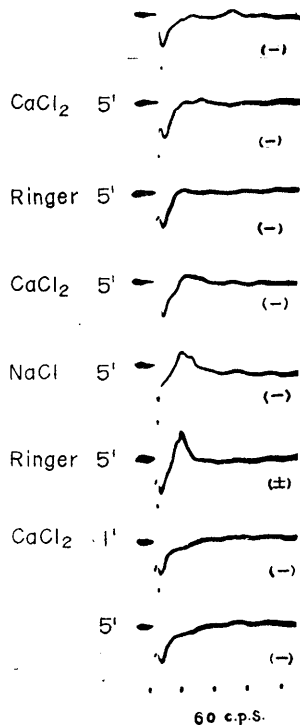


Fig. 2.

Blocking of neuromuscular transmission. Toad in summer. The isolated preparation had been kept in Ringer's solution at about 10°C for five days before the experiment was carried out. In this case the new method failed.

e. p. p. は著しく増大する事実がある²⁾。此の場合もそのような条件で電位は明らかに増大するが、其の電位変動の形は必ずしも e. p. p. とは認め難い。肉眼的な筋の動きは殆ど認められないのに上から 5 番目の記録では明らかに筋働作流が認められる。斯る状態では e. p. p. の観測は不可能に近い。

b) 神経筋標本の低温保存 (2°C 前後)

神経筋標本を切り出して Ringer 氏液中で 2°C 前後の氷室に 6 日間保存した。斯る標本で同様な実験を行った成績が Fig. 3 である。実験開始直後は間接刺激により筋は強く収縮し筋働作流も大きく現われて居るが、15分後は電位は著しく減少して居る。併し肉眼的な筋の動きは最初と余り変って居ない。実験 a) の成績と比べると、標本の機能はより良く保たれて居ると云える。15分後外液を等張 CaCl₂ 水溶液に更えて 2分後 (図中 CaCl₂ 2' の印) は、筋働作電位及び筋の収縮は共に著しく増強して居る

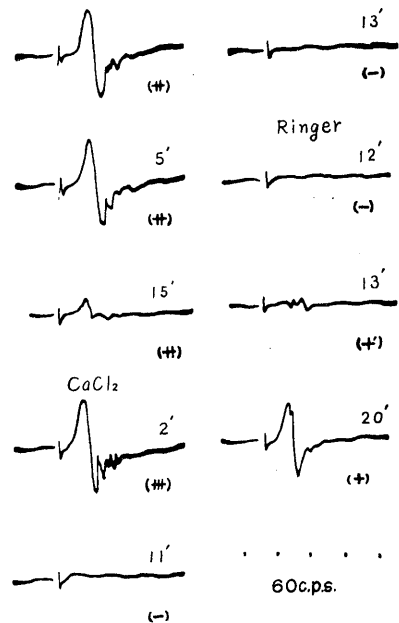


Fig. 3.

Blocking of neuromuscular transmission. Toad in summer. The isolated preparation had been kept in Ringer's solution at about 2°C for six days before the experiment was carried out. In this case the end-plate potential could not be measured by the method.

が10分以上経過後筋の動きは全く止み、極く微弱な e. p. p. が認められるにすぎなくなった。其の後外液を Ringer 氏液に更えて12分後 (図中 Ringer 12' の印) では電位は殆ど認められないが、13分後には若干変動が現われ、筋も極く弱く動くのが認められた。更に20分後では著明な筋働作流が認められ又筋も強く収縮するようになった。

此の成績を見ると実験 a) の場合と同様 e. p. p. と筋働作電位は分離しないので、斯る状態では e. p. p. の観測は不可能と言わねばならない。

○ 蟻の低温飼育 (10°C 前後)

上記のように夏期の蟻の神経筋標本を Ringer 氏液中で低温に保存しても、冬期に見たような接合部遮断によって e. p. p. が観測出来るよう

な状態にはならないので、今度は生きた蟻を 10°C 前後の氷室で 6 日間飼育し、其の後神経筋標本を切り出し、Ringer 氏液中で 10°C 前後の氷室に 1 日保存した材料で実験した成績が Fig. 4 である。図は左列上端から右列下端迄連続して約 24 時間にわたって観察した結果で、夫々の記録に最初から経過した時間が記入してある。

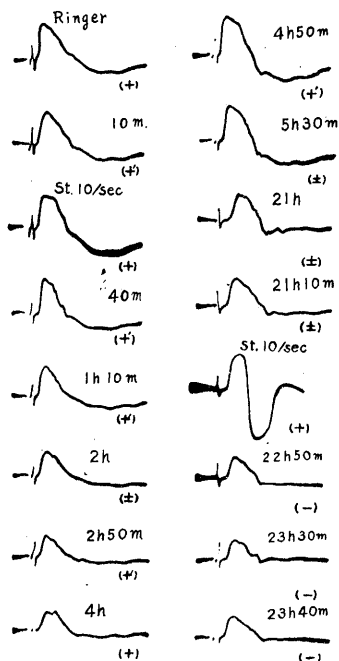
Ringer 氏液中で始めは間接刺戟による筋の収縮も著明で10分経過後毎秒10回の頻数刺戟によって (左列, st. 10/sec の印) 電位は増大し筋の収縮も力強くなったが、2-4 時間後には筋の動きは極めて微弱になって居り、発現する電位は e. p. p. と認めてよさそうである。4 時間後外液を高濃度の Ca を含む食塩水 (Ca, 18 mM, Na, 96 mM) に更えると50分後 (図中, 4 h 50 m の記録) 電位は著増して居り、更に1時間30分後 (図中, 5 h 30 m の記録) もかなり大きい。この時、間接刺戟による筋の動きは殆ど認められなかったが、後電位の変化から此の電位を直ちに e. p. p. と判定するのは危険である。

外液を Ringer 氏液に更えてそのまま置き、翌日観察すると最初から21時間余り経過後は間接刺戟に対し筋の反応は殆んど認められないから此の電位は e. p. p. と認められよう。此の時毎秒10回の頻数刺戟により (右列, st. 10/sec の印) 筋は強く収縮し、著明な筋働作流が現われて居る。約23時間経過後は肉眼的な筋の動きは全くみとめられず、発現する電位変化の経過は e. p. p. と認められるような状態になって居る。併し此の例では電位変化の経過は典型的な e. p. p. のそれではない。

此のように夏期に於ても蟻を氷室で飼育し、冬期に似た状態に置くと、其の神経筋標本は Ringer 氏液中で接合部遮断の状態になり得る事実を此の成績は示して居る。この場合も実験開始より終り迄神経働作電位には著変を認めなかった。

IV. 考 察

冬期蟻の坐骨神経縫工筋標本を比較的低温で



60c.p.s.

Fig. 4.

Blocking of neuromuscular transmission. Toad in summer. The isolated preparation from a toad, which had been kept at about 10°C for six days, was then kept in Ringer's solution at about 10°C for a day.

Ringer 氏液中に長時間保存すると他に何等の操作を加える事なしに神経筋接合部の遮断が起って、間接刺激により e. p. p. が観測出来るような状態になる事がある事は既に報告した⁹⁾。斯る接合部遮断の状態の成因に就ては種々考えられるが、勿論 e. p. p. の減少が第一に挙げられる。これは終板に保持されて居たCaが次第に脱落して行く為に起るものと考えられるが⁶⁾、一方筋自身の興奮性の低下も要素の一つと思われる。又筋の温度を下げる事によって、所謂遮断剤の効果に変化が起ると言う報告もあり⁷⁾、低温が終板の機能に影響する事を思わせる。

神経筋標本を長時間 Ringer 氏液中に比較的低温で保存すると、終板、筋は共に次第に機能が低下して行くが、終板の方は外液の Ca 濃度を一時的に増す事により其の機能を充分回復するのに、筋はそのような条件で機能は必ずしも充分回復しないものようで、此の結果筋動作流は消失し e. p. p. が観測出来る状態になるものと考えられる。

肉眼的観察で此の時筋は白く混濁した状態になり長さも少し短くなる。斯る状態から此の方法を「筋変性法」と名付けた。即ち神経及び終板の機能は充分保たれて居るのに、筋の機能はかなり損われた状態と思われるから、e. p. p. は発現するのに筋動作流は現われないわけである。

所が夏期臺の神経筋標本に此の筋変性法を用いて e. p. p. を観測しようとしたが、冬期のような e. p. p. 観測に好都合な接合部遮断の状態は殆ど現われなかった。其の原因を単に切り出した標本に対する室温の高さにあると考えて、其の標本を低温に暫く保存して後用いた実験が(2) a, b である。成績にしめすように何れの場合も終板と筋は同程度に其の機能が減弱し、又外液に高濃度の Ca を加えても、終板の機能の方が筋に比し特に著しく回復すると言う現象も起らず、所謂接合部遮断の状態にはならなかった。

依って筋変性法が可能になるのは冬期の低温が臺の生体に影響して終板や筋に何らかの変化

を起させるのであろうと言う考えの下に、実験(2) c を行ったわけである。即ち夏期の臺を10°C前後の氷室で6日間飼育し、其の後神経筋標本を切り出して行った実験の成績は実験(1)の冬期の場合に酷似して居り、筋変性法で e. p. p. が観測出来るのは冬期の状態にある臺でなければならない事実を示して居る。

冷血動物の血液中の無機イオンの量や cholinesterase 量等は夏期と冬期とで差のある事は既知の事実であるが⁸⁾、其の成績は必ずしも一致して居ない。本実験の成績を見ても夏期と冬期とで終板や筋等に機能の差がある事は充分考えられる所であるが、其の要因となるものは必ずしも分明しない。夏期の臺では終板と筋の機能の消長は密接に関連をもって居り、冬期の臺では両者の機能の消長は必ずしも平行しないと言えそうである。此の点夏の活動期と冬の冬眠期とを考慮する時、合自的々な生体の反応と言えなくもない。

夏期と冬期の臺の終板や筋に機能的差異が生ずる要素として、ACh を結合すべき膜蛋白⁹⁾¹⁴⁾の変化を第一に考えねばならないように思われる¹⁰⁾。殊に本実験の成績でも明らかなようにCaに対する反応の差が著明であって、終板に就て言えば Ca の保持力、即ち受容膜を構成する蛋白の Ca 結合力の差が考えられる。此の点に関しては筋に就ても同様の事が想像される。

更に受容膜に関しては cholinesterase との関係を考えなければならない¹¹⁾¹²⁾。終板受容膜は其れ自身 cholinesterase であると言う説さえあり¹³⁾、此の考え方に基くと受容膜の蛋白は又 Ca を結合して居るとも考えられるから、上述の Ca に対する結合力と言うのは此の受容膜の機能に属するものと考えられる説もあるわけで、これを考慮すると cholinesterase が最大の要素になる事になり、夏期と冬期との臺の終板や筋の cholinesterase 量を比較計測する必要が認められるが、これは今後の課題としたい。本実験の成績から見ると、恐らく夏期と冬期とでその気温の差により生体組織内の cholinesterase 量に変化が起り、これが原因となって筋変性法

に対する季節的差異となって現われるものと見てよさそうである。又蟄の如き変温動物の冬眠の原因の一つも斯る変化にある事が充分想像される。

V. 結 論

1) 冬期蟄の坐骨神経縫工筋を Ringer 氏液中に長時間低温で保存すると所謂接合部遮断が起って e. p. p. が観測出来る状態になる。斯る状態を生起させる方法を此の時の筋の肉眼的所見から「筋変性法」と名附けた。

2) 切り出した神経筋標本を低温に保存しても、夏期の蟄では筋変性法によって e. p. p. が観測出来るような所謂接合部遮断が起らない。

3) 夏期の蟄でも暫く人工的な低温の環境で飼育すると、冬期蟄と同様筋変性法によって、e. p. p. が観測出来るような所謂接合部遮断が起る。

4) 筋変性法に対し夏期と冬期とで相違が生ずる原因に就て種々論議した。恐らく cholinesterase 量の変化がその主因であろうと考えられる。

終りに、終始御懇篤な御鞭撻と御校閲を賜った山田教授に深甚な謝意を表す。

文 献

- 1) 古川太郎 (1957) 微小電極法の手引き 金芳堂
- 2) 大塚正徳 (1961) 神経筋接合部の生理と薬理 生体の科学 **12**, 137
- 3) 岡田勝喜; 終板電位に及ぼす Na, Ca の作用 未刊
- 4) 梶 時彦 (1959) Ca イオン欠乏による運動神経終板の伝達中断に対する guanidine の恢復作用に就いて 日本生理誌 **21**, 15
- 5) 岡田勝喜 (1961) 終板電位に及ぼす ethylalcohol の影響 日本生理誌 **23**, 655-664
- 6) Okada, K. (1961) The effect of calcium ion on neuromuscular transmission. *Yonago Acta Medica.* **5**, 1
- 7) Bigland, B. et al. (1958) The effect of lowered muscle temperature on the action of neuromuscular blocking drags. *J. Physiol.* **141**, 425
- 8) 林 香苗 (1956) 解剖学及び生理学計数 解剖学及び生理学計数表刊行会
- 9) Wilson, I. B. and F. Bergmann (1950) Acetylcholinesterase. *J. Biol. Chem.* **186**, 683
- 10) 伊沢正実 (1949) 蛋白質の変性 化学の領域 **3**, (3号) 47
- 11) Fatt, P. (1954) Biophysics of junctional transmission. *Physiol. Rev.* **34**, 674
- 12) Paton, W. D. M. and W. L. M. Perry (1953) The relationship between depolarization and block in the cat's superior cervical ganglion. *J. Physiol.* **119**, 43
- 13) Waser, P. G. (1957) Über die Wirkungsweise von cholinergischen und anticholinergischen Stoffen. *Schweiz. Med. Wschr.* **87**, 577
- 14) Del Castillo, J. and B. Katz (1955) On the localization of acetylcholine receptors. *J. Physiol.* **128**, 157

マウス Tumor cell の Cholesterol の生合成 612.397.4

Cholesterol biosynthesis in mouse tumors

中 村 治 雄 (NAKAMURA-Haruo)*

A study has been carried out on the capacity of ascites tumors to incorporate the C^{14} of labelled acetate and mevalonic acid into cholesterol. The Gardner lymphosarcoma and the shimkin mammary carcinoma exhibited a high activity of cholesterol synthesis, on the other hand, the sarcoma-180 and Ehrlich carcinoma showed only slight activity.

It is concluded from the present results that the synthesis of cholesterol is not an essential requirement for the viability and proliferation of tumor cells.

I. 緒 論

Tumor cell の脂質の生合成に関する研究は極めてすくない。Tumor cell の種類及びTumor cell の転移にともなう化学的な変化を究明する事は非常に価値のある事である。最近 Tumor の代謝系には正常の代謝系に於けるものが欠除しているものがある事が明になって来た¹⁾。従って Tumor cell の発育と増殖には Tumor cell 特有の生化学的な特異性があるのではないかと思われる。若し Tumor 発生の生化学、および Tumor cell それ自身の生化学についてのくわしい知見が得られるならば Tumor の制御の手だてが引き出され、これによって Tumor 治療の有力な方法が見いだされるわけである。

この報告は醋酸及び Mevalonic acid よりの Cholesterol の合成能を移植 Tumor cell を用いて行われた。

II. 実験方法

A. Tumor cell は Ehrlich carcinoma, Gardner lymphosarcoma(6C3H-ED), Sarcoma-180 の ascites form と shimkin mammary carcinoma (C3H-SH) の lymphocytic mutation を用いた²⁾。cholesterol の前駆物は sodium acetate- $1-C^{14}$ と DL-mevalonic acid- $2-C^{14}$ (MVA) が用いられ、MVA は dibenzethylene

diamine salt であるので使用前にアンモニアで処理後エーテルで塩を除去した。両者は共に他の放射物質の混在はない。

B. Tumor cell はマウスに接種後 7-8 日のを用い、頭部撲殺法でころし、直に腹部をひらき Heparin 処理遠心管に腹水をいれ、2500 rpm 5 分で遠心し上清をすて、2-3 倍量の培養液に浮遊し、その一部を hematocrit にとり遠心しその読より重量をもとめた。次に必要量を正確に 20 ml の培養ビーカーにいった。

C. 培養液は 0.1 M potassium phosphate buffer で pH 7.2, 0.02 M glucose, 0.03 M nicotinamide, 及び 0.004 M $MgCl_2$ をふくむ。この液は cell の重量 1 gr あたり 5 ml を用い、之に放射性物質を加え 37°C 2 時間 O_2 気流中で震盪しながら培養した。

D. 培養後 2.5 ml の 15% KOH アルコール液と 1-2 mg の cholesterol を carrier として加え 16 時間水浴上で鹼化した。次で約 10 ml の石油エーテル (B.P. 30-60°C) で 6 回抽出し、これらは 125 ml のコルベンにあつめ、アルカリ性でなくなるまで水で洗い、70°C で乾燥し、3 ml のアセトン-アルコール (1:1) で抽出し遠心管に入れ 2 ml の 1% digitonin 液を加えた。若し直に沈澱が生じない時は 1 滴の醋酸を加えた。3 時間室温放置後遠心し cholesterol-digitonide はアセトン 2 回、エーテルアルコール (2:1) 2 回、更にエーテルで 1 回あらい 70°C 3 時間乾燥した。cholesterol-digitonide の重量をはかり、温メタノールにとかしその一部をア

* 北海道大学医学部第 1 生理学教室
1 st Dept. of Physiol., Hokkaido Univ. School of Med.
〔昭和36年10月25日受付〕

ルミニウム皿にとり乾燥後 Windowless gas flow counter で放射能を測定した。基質の

Table 1.

Effect of substrate concentration in incorporation of sodium acetate into cholesterol of shimkin mammary carcinoma.

| Na acetate concentration μ moles per gr cell | μ moles of Na acetate incorp. per gr cell $\times 10^3$ |
|---|--|
| 11.5 | 2.7 |
| 33.5 | 6.0 |
| 61.0 | 7.5 |
| 116.0 | 7.9 |

Table 2.

Effect of substrate concentration on incorporation of mevalonic acid into cholesterol.

| MVA concentration μ moles per gr cell | μ moles of MVA incorp. per gr cell $\times 10^3$ | |
|--|---|----------------------|
| | Shimkin mammary carcinoma | Ehrlich carcinoma |
| 3 | 234 | 4.3 |
| 9 | 287 | 5.2 |
| 15 | 250 | 3.3 |
| 27 | 215 | |
| 33 | | 2.0 |
| 39 | 96 | |

Table 3.

Incorporation of C^{14} of sodium acetate into cholesterol.

| Sample No. | μ moles of Na acetate incorp. per gr cell $\times 10^3$ Mean \pm S. D. | Substrate concentration μ moles/gr. cell |
|--|---|--|
| 5 (Shimkin mammary carcinoma) | 41 \pm 1.8 | 61 |
| 5 (Gardner lymphosarcoma) | 43 \pm 7 | 61 |
| 8 (Sarcoma-180) | 1.1 \pm 0.03 | 61 |
| 6 (Ehrlich carcinoma) | 0.56 \pm 0.11 | 61 |

Table 4.

Incorporation of C^{14} of mevalonic acid into cholesterol of Ehrlich carcinoma.

| Sample No. | μ moles of MVA incorp. per gr cell $\times 10^3$ Mean \pm S. D. | Substrate concentration μ moles/gr cell |
|------------|--|---|
| 5 | 6.0 \pm 0.6 | 9 |

cholesterol への Incorporation は wet tumor cell 1 gr あたりの micromoles で表わした。

$$\begin{aligned} \text{Incorporation} &= \text{Radioactive counts} \\ &\times \frac{\text{Total cholesterol}}{\text{Plated cholesterol}} \\ &\times \frac{\mu \text{ moles substrate}}{\text{cpm}} \times \frac{1}{\text{Wet weight}} \end{aligned}$$

Ⅲ. 実験成績

基質の濃度と cholesterol の Incorporation との関係は醋酸の場合には急激にましのちほぼ一定となり最高の activity の限界濃度は約 60 μ moles per gr of cell 即ち 12 mM であったが mevalonic acid の場合には急げきに上昇し又急げきに減少を来し、MVA の濃度により抑制された。

Incorporation は Tumor cell の種類によってまちまちであったが醋酸については高 active なものと低 active のものがあった。即ち Gardner lymphosarcoma と shimkin mammary carcinoma は共に高い合成能を有するが、Ehrlich carcinoma と sarcoma-180 は低い合成能を有した。而して Ehrlich carcinoma の場合には mevalonic acid を使用すると醋酸からの合成能よりはよいが、shimkin mammary carcinoma のにくらべると極めて低い。この結果より Ehrlich carcinoma の場合には醋酸から mevalonic acid にいたる段階に障害があるのではなくてそれ以後の段階に障害がある様に考えられる。

Ⅳ. 考 察

Cholesterol の合成能は Tumor の種類により著しくことなっていた、Shimkin mammary carcinoma と Gardner lymphosarcoma は特に高い合成能を有し、これはマウスの肝の slice の価より大きな価であった。これに反して Ehrlich carcinoma と sarcoma-180 は共に合成能極めてすくない。

Emmelot と Bosch³⁾ は cholesterol の合成能について卵巣の granulosa cell tumor と sarcomatoid tumor との間には醋酸よりの

Incorporation には差異がなかったと報じ、更に Emmelot と Van Vals⁴⁾ は p-dimethylamino-azobenzen で生じた neoplastic rat liver でも醋酸よりの合成能は減少しなかったと報告している。

従って以上の事より cholesterol の合成能は Tumor に特異性があると結論する事は出来ない。而し、たしかに中には低 cholesterol 合成能の Tumor があり、その合成過程に於て何等かの不足があると考えられる。

V. 結 論

1. 醋酸及び mevalonic acid より cholesterol の生合成は醋酸については Gardner lymphosarcoma と Shimkin mammary carcinoma は高い合成能を有し、これに反し Sarcoma-180 と Ehrlich carcinoma は低い合成能を有した。

2. Ehrlich carcinoma の場合には mevalonic acid を用いても、合成能はあまり高まらない。従って醋酸から mevalonic acid にいたる段階に障害があると考えられる。

3. cholesterol の合成能は Tumor cell の發育と増殖に対し特異的なものでない。

稿を終るにあたり、米国カリフォルニア大学生化学教室 Dr. D. M. Greenberg 教授に深謝す。

文 献

- 1) Greenberg, D. M. and H. A. Harper (1960) *Enzymes in Health and Disease*. Charles C Thomas. U. S. A.
- 2) Sassenrath, E. N., Costa, F. M. and D. M. Greenberg (1961) *Studies with ascites Tumors in Experimental chemotherapy. I. Properties of six selected ascites tumors*. *Cancer Chemotherapy Report*, 5, April.
- 3) Emmelot, P. and L. Bosch (1955) *The metabolism of neoplastic tissues: Synthesis of cholesterol and fatty acid from acetate by transplanted mouse tumors in vitro and in vivo*. *Brit. J. Cancer*. **9**, 327
- 4) Emmelot, P. and G. H. Vanvals (1957) *The metabolism of neoplastic tissues: The metabolic activity of normal and cancerous rat livers studied with acetate-1-C¹⁴ in vitro*. *Z. Krebsforsch.* **62**, 116

輸卵管、輸卵管網膜及び子宮の求心性神経支配について 612. 813:612. 627

The afferent innervation of the oviduct, mesotubarium and uterus

青山新吾 (AOYAMA-Shingo)*

Studies were carried out on the afferent innervation of oviduct, mesotubarium, and uterus in toads by recording the impulse discharges from the nerve trunks or single myelinated nerve fibers of the urogenital nerve plexus. Furthermore, the electron-microscopic observations were performed on the urogenital nerve plexus. The results are summarized as follows:

1) Oviduct, mesotubarium and uterus were innervated in an overlapped manner with the nerve trunks of urogenital nerve plexus. From oviduct and uterus, however, afferent impulses were rarely led off.

2) The receptors in mesotubarium were classified into three types from the view-point of adaptation, namely, rapidly, less rapidly and slowly adapting; in uterus, of two types, slowly and less rapidly adapting; whereas in oviduct, only of slowly adapting one.

3) The receptive fields of single afferent fibers were from $2 \times 2 \text{ mm}^2$ to 450 mm^2 . In general, it was observed that the receptive field was large in slowly adapting receptor and small in rapidly adapting one: corresponding to the rapidity of adaptation of afferent discharges, three types of receptive field, i. e. small, middle and large, in mesotubarium; two types, i. e. large and middle, in uterus; and only a large receptive field was observed in oviduct.

4) In oviduct, duration of afferent discharges was longer on stimulation by air inflation than by applying pressure on the wall.

5) Spontaneous discharges from the urogenital nerve trunks were actively observed in breeding season. Most of the spontaneous discharges from the urogenital nerve trunks innervating uterus filled with ova may be caused by mechanoreceptors in the uterus wall.

6) In electron-microscopic study, myelinated nerve fibers of these nerve trunks occupied 10 to 40 per cent. The statistical analysis on 207 myelinated nerve fibers revealed that the fibers ranged from 0.5 to 8.9 micra in diameters, of which the majority ranged, however, from 1.0 to 4.0 micra. In regard to the myelin sheaths of the myelinated nerve fibers, they were composed of either thick or thin sheaths. And the nerve fibers of over 6 micra in diameter were possessed of relatively thick sheaths.

女性の内性器、特に子宮、輸卵管、又は卵巣の感覚については、いくつかの報告があるが、その大部分は痛覚に関してのものである。Kuntz¹⁾等はこれらの器官の疼痛は、主に子宮筋の収縮、或いはこれらの器官が、周囲のperitoneumを牽引することによりおこり、その求心経路はT₁₀-L₁の後根を通るものと、S₂-S₄の後根を通るものがあると報告している。又 Meigs²⁾は月経困難症の患者で superior hypogastric plexusを切断して、好成績を得たと報告し、Cleland³⁾は分娩時の疼痛は子宮の収縮によるものと、産道の伸展が主なもので、前者は T₁₁-L₁の後根

を、後者は仙髄後根を通る求心性線維によると報告している。

一方、子宮からの反射に関してはMcGaughey⁴⁾等によると、イヌに於て子宮の伸展拡張が腎流血量の減少をひきおこし、Donovan⁵⁾はヤギで子宮を伸展することにより vaginal cycle が変って来ると報告している。その他 Franklin⁶⁾その他の人達によっても utero-renal reflex に関する報告がある。なお従来、多くの学者⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾が人間の子宮、輸卵管、卵巣について組織学的に知覚神経を観察している。以上のことがらより、内性器に求心性神経支配の存在が明らかに推定出来る。

なお内臓の求心性神経支配の電気生理学的実験法による研究では、迷走神経領域では肺につ

* 新潟大学医学部第1生理学教室(内菌耕二教授)
Dept. of Physiol., Niigata Univ. School of Med.
〔昭和36年11月6日受付〕

いては Eintoven¹¹⁾ 以来, Keller & Löser¹²⁾, Adrian¹³⁾, 田崎¹⁴⁾¹⁵⁾, Paintal¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾ 等による業績がある. 特に Paintal は肺以外にもネコの消化管について一連の詳細な研究を行っている. 又最近胃に関しては Iggo²⁰⁾ の報告もある. 又内臓神経領域では Tower²¹⁾ をはじめ, Gernandt & Zotterman²²⁾, 又最近是新島²³⁾²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾ がガマの内臓に機械的刺激を与えて内臓神経より求心性衝撃を誘導し内臓の求心性多重支配機序を明らかにした. 尚新島²⁷⁾ の腎臓についての報告もある. 又最近坂川²⁸⁾ がガマ膀胱から求心性衝撃を坐骨神経膀胱枝から誘導記録している. しかし輸卵管, 子宮についての報告は非常にとぼしい. 最近, Bower²⁹⁾ がウサギを用いて, 子宮, 或いは広靭帯に機械的刺激を与えてその支配神経から求心性衝撃を観察し, mechanoreceptor について簡単な報告がある. 冷血動物に於ての報告は, ほとんどみられない. それで著者はガマの子宮, 輸卵管, 或いは輸卵管網膜からの求心性衝撃を観察記録し, 機械的受容体の性質, 及びその求心性支配様式を解明すべく実験を行い, あわせて, これら支配神経枝の電子顕微鏡的観察を行った結果, 若干の成績を得たので報告する.

1. 実験方法

a) 実験材料

実験材料には日本産の中等度の大きさのメスガマを用いた. ガマの脊髄を破壊し背位に固定し腹部正中線に口腔底より胸骨中央を通り恥骨部に至る長い正中切開を加え, 皮膚筋肉片を左右に翻転すると内臓が現れ, 脊髄の両側に对在する卵巣, 輸卵管, 子宮をみる. 両側の卵巣, 輸卵管, を左右に引き上げる時は紅褐色の前後両端のやや尖った腎臓をみることが出来る. 輸卵管は肺臓の後方より体の後方に向けて縦走する極めて長い管で, 前端は肺臓の後方に開き, 輸卵管腹腔口となり, 卵巣より体腔に排泄せられた卵が腔口より輸卵管に入る. 輸卵管には前半の屈曲の少ない部 (Pars recta) と後半の極めて屈曲の多い部 (Pars convulsa) の二部を識別

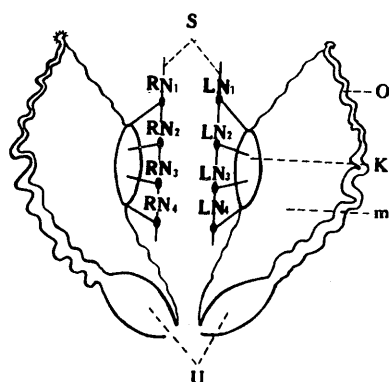


Fig. 1.

Schematic representation of sympathetic innervation of mesotubarium, oviduct and uterus of toad.

S: Sympathetic chains.

K: Kidney.

O: Oviduct.

U: Uterus.

M: Mesotubarium.

LN₁, LN₂, LN₃, LN₄: Nerve trunks from left sympathetic chain.

RN₁, RN₂, RN₃, RN₄: Nerve trunks from right sympathetic chain.

する. Pars convulsa は細い管状の子宮につながっている. その管壁は輸卵管に比べて薄い. 子宮は左右合着して総排泄孔の背側に開く. 左右の腸間膜附着部より約 5 mm 外側へこれと平行に直腸より食道に至る間に鉗を入れ, 外側腹膜体壁葉を剝離すると, 左右両側に脊髄に沿って上下に走る交感神経索が現れる. Plexus urogenitalis は交感神経節の VII, VIII, IX, X よりの枝よりなり第 1 図のように A. urogenitalis にそって腎臓の方に約 4 本走っている. これらの神経枝は非常に細く数十ミクロンであるが, これに比してそれを包む結締組織鞘は非常に厚い. 特に大きいガマではそれが著しい. 手術に際して細心の注意を払わなければ傷つけ易い. そこでまず卵巣, 胃, 腸, 膀胱等, 支障をきたす臓器, 組織はすべて取除いておく. こうして作製された神経-臓器標本は殊に神経が消化液, 胃及び腸間汚物, 尿等によって汚染されると, 甚だいたみ易いので, 手術中なるべく汚さぬようにし, 最後には, Ringer 氏液で何回も洗滌することが大切である. 又実験中もなるべく頻

回 Ringer 氏液で標本を洗滌することが必要である。以上のように注意しても一般に標本の傷み方は早く大抵は数時間でだめになり、冬期、傷み方の遅い時でも翌日使用することは不可能であった。実験は目的に応じて、そのまま神経-臓器標本を実験装置に取りつけて行ったり、或は神経をガラス板上にのせ、binocular stereomicroscope の下に田崎の記載した方法によって単一神経線維の分離をこころみた。しかしこれらの神経枝は非常に細く、有髄神経線維が少いので、単一神経線維を分離するのが非常に困難を伴ったので、完全な単一神経線維ではなくても単一ユニット或は数本の神経線維で実験せざるをえないものが多かった。

なお実験中、性ホルモンの投与を行ったものがあるが、Progenin (山之内製薬、黄体ホルモン 5 mg/cc)、Progynon sol (Schering 卵胞ホルモン 1 mg/cc) も毎日 1 回 15-20°C に維持した箱の中に飼っていたガマの臀筋に注射をした。又実験日には、実験する 1-2 時間前に注射を行い、前述と同様求心性衝撃を誘導した。

b) 実験装置及び実験操作

刺激としては von Frey の刺激毛、又は先端の円いガラス棒でこれらの臓器を触れたり、圧

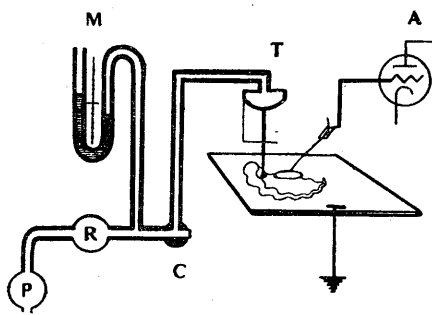


Fig. 2.

Diagrammatic representation of apparatus used for mechanical stimulation.

P: Pump.

R: Reservoir of compressed air.

C: 3-way cock connected to reservoir and tambour.
T: Tambour and rod with small plastic plate at its end.

M: Hg-manometer.

A: Amplifier.

迫を加えることなどを行い、次で第 2 図に示すような装置によって行った。即ちポンプ (P) より reservoir (R) 中に空気を圧入しておき、コック (C) をタンブール (T) の方向に通じると、(R) 中の空気は、(T) の中に流入してタンブールを膨らます。するとその先についている横桿が下へ降り、その先の $2 \times 2 \text{ mm}^2$ のプラスチックの板が下に置いてある標本を圧迫する。(C) を回転して外界に通ずると、タンブールの空気は外に流出してタンブールは縮み、横桿は上に昇り刺激は止む。刺激時の圧は (C) と (R) の間に入っている水銀マンオメーター (M) によって読むことが出来る。Air inflation による刺激は 20 cc の注射器の先端と輸卵管を木綿糸でしばり、他端も空気がもれないようにかたくしばり空気を圧入する。この場合、結紮は神経支配領域外で行った。

電極には Ag-AgCl 電極を、増幅器には通常の R-C 結合のものを使用し、2 現象オシロスコープにより Grass 型の連続描写装置にてポジフィルムを使用して、求心性衝撃と時間標識、或いは刺激指標との同時描記を行った。

c) 電子顕微鏡による観察法

これらの神経枝を、周囲の結締組織鞘から分離し、両端を木綿糸でしばり、切り離し、直ちに 1% オスミウム酸リン酸緩衝液中に浸漬し冷暗所 (氷室内) に静置する。組織の融解及び腐敗等死後変化による構造の崩壊を阻止するためには、標本をなるべく迅速にオスミウム酸リン酸緩衝液に入れ、氷室内に静置するとよい。固定液は 2% オスミウム酸溶液に等量のリン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて混和したものであるが、使用直前に調整し、氷室内に入れておいたものを用いるとよい。固定時間は比較的細い神経枝は 2 時間 30 分、比較的太いものは 3 時間とした。次に固定された標本をピーカに入れ、蒸留水で 2-3 時間、数回水をかえて水洗する。それから 70%、80%、90%、95%、absolute ethanol を漸次、強くして脱水を行った。脱水した標本はメタクリル酸樹脂でゼラチンカプセルに包埋した。重合が完了し包埋操作が終了するとき、ガ

ラスナイフを装置した LKB 製 Sjöstrand microtom により 0.01-0.05 μ の超薄切片をつくり、コロジオン膜を張った銅板メッシュに載せ、完全に乾燥させて電子顕微鏡で観察し、併せて撮影を行った。使用した電子顕微鏡は主に明石製 Transcope 50である。更に微細構造を追究する場合は日本電子光学製 JEM-5 G を用いた。

II. 実験結果

1) 刺激部位と求心性衝撃

von Frey の刺激毛、或いは細くて尖端の円いガラス棒で諸所に機械的の刺激を与えて、各神経枝より求心性衝撃を誘導してみると、これらの機械的の刺激に全然応じない神経枝が非常に多かった。又機械的の刺激に必ずしも求心性衝撃が得られるような例では、その神経附着部の腎臓又はその附近の輸卵管網膜に於て、第3図 A, C, E, G に示すように、求心性衝撃は比較的強いが、それにより遠ざかるに従って、同図 B, D, F, H の如く反応は微弱になり、子宮壁、輸卵管壁、又はその附近の輸卵管網膜では、同図Bに示すように、数本の神経線維によると思われる discharge pattern を示すようになる。しかし、求心性衝撃が得られるのは、神経附着部の腎臓又はその附近の輸卵管網膜が大部分で、子宮或いは輸卵管からは、非常に稀にしか得ることは出来なかった。その様子を各神経枝についてみてみると次表のようになる。

N₁ 神経枝についてみてみると、48例中、36例に機械的の刺激に必ずしも求心性衝撃が得られるが、その大半が、神経附着部の腎臓、或いは腎臓附近の輸卵管網膜からだけであり、輸卵管からは48例中4例だけ、子宮では2例だけしか観

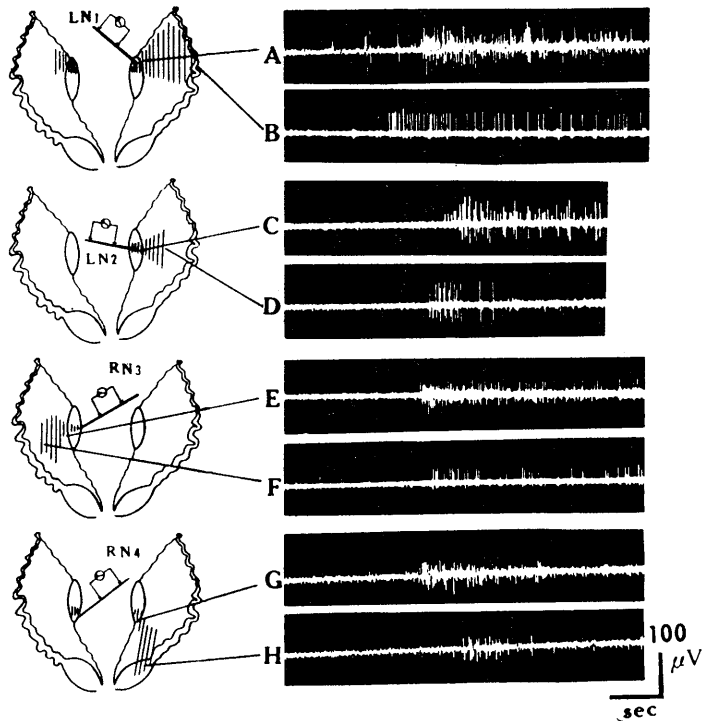


Fig. 3.

Records taken from each nerve trunk showed that the central part of innervating area was more sensitive than the peripheral part of that to mechanical stimuli.

A to F: Impulses from the nerve innervating the same side stimulated. G and H: Impulses from the nerve of the opposite side stimulated.

| 神経枝の種類 | 実験例数 | 機械的の刺激により求心性衝撃が得られた例数並びに比率 | 輸卵管からの求心性衝撃 | 子宮からの求心性衝撃 |
|----------------|------|----------------------------|-------------|------------|
| N ₁ | 48 | 36 (76.8%) | 4 (8.3%) | 2 (4.2%) |
| N ₂ | 46 | 27 (58.7%) | 2 (4.3%) | 3 (6.5%) |
| N ₃ | 32 | 13 (40.6%) | 1 (3.1%) | 4 (12.5%) |
| N ₄ | 33 | 11 (33.4%) | 0 | 3 (9.1%) |

察出来なかった。この中には、輸卵管、子宮、両者から求心性衝撃が得られるものが1例あった。しかし下部神経枝になるにしたがい求心性衝撃は得がたくなり、N₄ 神経枝についてみると、33例中11例に求心性衝撃が得られるにすぎず、それもその大半が、神経附着部の腎臓、輸卵管網膜までであり、子宮壁にまで求心性衝撃が得られたのは、その11例中3例だけであり、輸卵管では、1例も観察できなかった。ここで注目すべきことは、一般に下部神経枝は上部神経枝に比較して、求心性衝撃が得がたく、又得

られたとしても微弱であるということである。これは下部神経枝が上部神経枝に比較して求心性線維が少ないからと思われる。

2) 支配部位

このように、機械的刺激により、求心性衝撃が得られる例は非常に少ないが、一般に N_1 神経枝はその側の上部の輸卵管，輸卵管網膜を、 N_2 神経枝はその下の部分といったように上部より下部に大きく overlap して支配している。又一般に N_1 神経枝の支配領域は最も広く、下部神経枝になるに従って、支配領域は小さくなる。第4図は各神経枝による支配領域が最も大きい場合を示したものであるが、 N_1 神経枝又は N_2 神経枝が、その支配領域が非常に広く、輸卵管，輸卵管網膜の大部分を支配している例が多く、時には子宮にまで支配領域をもつ事があった。又輸卵管は N_1 神経枝により支配されることが最も多く、 N_2 、 N_3 神経枝の順に少なくなってくる、 N_4 神経枝によっては支配されるようなことはなかった。子宮は N_3 、又は N_4 神経枝によって支配されていることが多いが N_1 、又は N_2 神経枝によっても支配されることがある。又一側の神経枝は同側を支配しているが、稀に他側の一部分を支配していることもある。しかし反対側支配の場合、腎臓、その附近の輸卵管網膜、又子宮の一部を支配するにとどまり、輸卵管は他側の神経枝により支配される

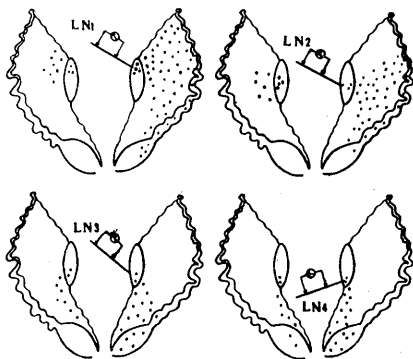


Fig. 4.

Innervating areas.

Dotted areas indicate the sensitive parts of nerve trunks of LN_1 , LN_2 , LN_3 , and LN_4 to mechanical stimuli. Every nerve trunk innervates the opposite side.

ようなことはなかった。又反対側支配の場合、それに附属する受容器の種類も殆んど異なることがないようである。

3) 単一神経線維による観察

以上のように、これらの神経枝は非常に細く、電子顕微鏡の項でのべる如く、大半が無髄神経線維であること、又これに含まれる有髄神経線維は、上部神経枝 (特に N_1 , N_2) には約 6μ 又はそれ以上の比較的太い有髄神経線維も数本含まれるが、 $1-4\mu$ 程度の非常に細いものが大半をしめていることなどにより、これらの神経枝より、単一求心線維を分離する事は、非常に困難であり、又不可能の場合も多かった。なおこれを一層困難ならしめたことは、 N_1 神経枝では約 1cm とりだせるが、下部神経枝では 0.5cm 又はそれ以下しかとり出せないこと、又機械的刺激を与えても、特に輸卵管、子宮では非常に稀にしか、求心性衝撃が得られなかったことである。又うまく単一神経線維を分離出来た時でも、それより求心性衝撃を誘導することは殆んど出来なかった。おそらく、これらの神経枝には、機械的刺激に應ずる求心性神経線維が非常に少ないからであろう。それで多くの場合単一ユニットからの response の記録を行った。しかし、特に輸卵管では、束のまま誘導しても単一或いは数本の神経線維によると思われる discharge pattern をしめすものが多かった。このようなことから、輸卵管を支配している求心性神経線維は、これらの束の中に数本、或いは1本しか含まれていないことを示唆する。

a) 応順性について

上述のような刺激方法で順応性をしらべてみると、順応性の速いもの、遅いもの、又その中間に存するものがみられる。ここでこれらの区別を明確にするため、次のような等級にわけてみた。

| 順 応 性 | 時 間 |
|-------|-------|
| 速 い | 2秒以内 |
| 中 等 度 | 2-10秒 |
| 遅 い | 10秒以上 |

順応性の速いものは非常に稀にしか観察されなかった。又これの誘導されるのは、 N_1 神経枝からだけであり、それも腎臓の先端部或いはその近くの輸卵管網膜に限られていて、輸卵管、輸卵管網膜、子宮からは、このような速い

順応性のものは1例も観察できなかった。第5図Aは右腎臓の先端部に圧迫刺激を与えて、右側 N_1 神経枝より求心性衝撃を誘導したものであるが receptive field は小さく約 $5 \times 5 \text{ mm}^2$ である。最初 5 mmHg で圧迫すると on-

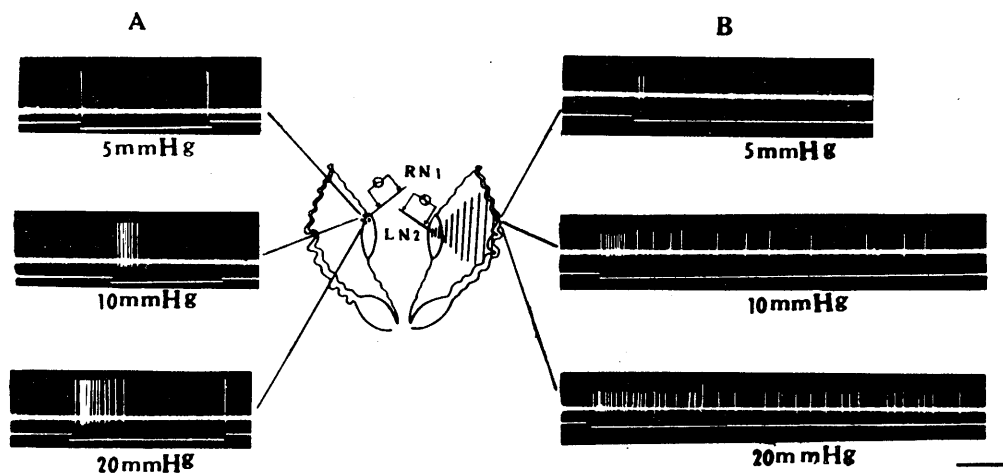


Fig. 5.

Impulses in a single nerve fibers (RN_1 , LN_2).

Discharge of impulses during the pressure stimulation on kidney recorded from a afferent fiber RN_1 (A), and on oviduct recorded from a afferent fiber LN_2 (B).

Intensity of pressure $5 \text{ mmHg}/4 \text{ mm}^2$(Above)

$10 \text{ mmHg}/4 \text{ mm}^2$(Middle)

$20 \text{ mmHg}/4 \text{ mm}^2$(Below)

Solid area : Sensitive area of the afferent fiber LN_2 .

Dotted area : Sensitive area of the afferent fiber RN_1 .

Horizontal and perpendicular bars show 1 sec. and $100 \mu\text{V}$ respectively.

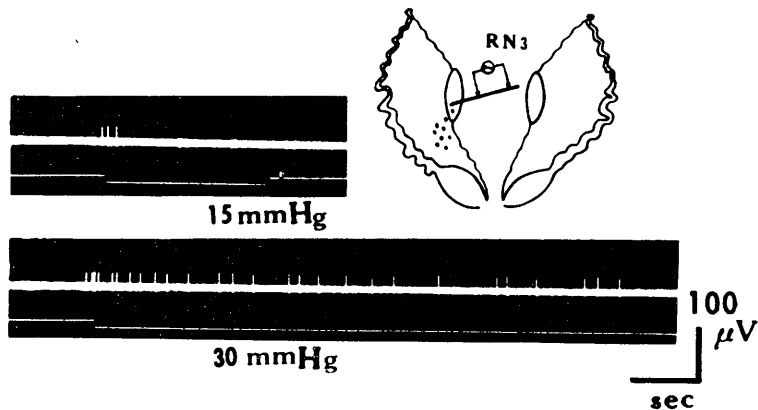


Fig. 6.

Impulses in a urogenital afferent fiber RN_3 , during pressure stimulation of mesotubarium.

Intensity of pressure $15 \text{ mmHg}/4 \text{ mm}^2$(Above)

$30 \text{ mmHg}/4 \text{ mm}^2$(Below)

Dotted area : Sensitive area of the afferent fiber RN_3 .

off response がみられるが、20 mmHg の圧迫刺激を与えても1秒以内に求心性衝撃はみられなくなる。この adaptation curve は第8図Aに示してあるが、急勾配で順応しているのがわかる。このような順応性の速いものの spike は、比較的振幅が大きく、経過の速いものばかりであった。又その部分を von Frey の刺激毛で軽く触れるだけで、鋭敏に求心性衝撃が得られる。

第6図は中等度の順応性を示す例である。右 N₃ 神経枝から求心性衝撃を誘導すると、同側の腎臓の一部及びその附近の輸卵管網膜を支配している、その receptive field は約 10-10mm² であった。はじめ 5 mmHg の圧迫刺激を与えても、求心性衝撃は得られないが 15 mmHg で圧迫すると数個の求心性衝撃が観察される。しかしそれより圧を増して 30 mmHg で圧迫すると初期インパルスは増加するが、約 8 秒続いて止んでしまった。これは中等度の順応性を示すものである。この様な中等度の順応性を示すものの spike をみると、すべてその振幅が小さく、比較的経過が長く、初期頻度があまり多くないことである。この adaptation curve は第8図Bに示してある。このような順応性のものは、腎臓、及びその周辺の輸卵管網膜に多く観察されるが、時には子宮の一部にも観察することが出来る。しかし輸卵管及びその附近の輸卵管網膜には決してみる事が出来なかった。又この受容器は軽い圧迫刺激には応ぜず、相当に強い圧迫刺激ではじめて、求心性衝撃が得られるのが特徴的である。

順応性の遅いものは、腎臓、輸卵管網膜、輸卵管、子宮のいずれの部分にも観察されるが、輸卵管においては、全例が遅いものばかりであった。子宮では中等度の順応性のものもみられるが、大部分は遅い順応性のものであった。第5図Bにしめすように、諸所に von Frey の刺激毛、或いは細いガラス棒で機械的刺激を与え、左 N₂ 神経枝から求心性衝撃を誘導すると、同側の腎臓から始まり扇状に広がり輸卵管網膜および輸卵管を非常に広範囲に支配してい

る。この receptive field は約 4 cm² である。これは他の receptive field と比較して非常に大きいものである。ここで最も求心性衝撃が得られ易い輸卵管の部分 plastic plate で順次 5, 10, 20 mmHg の圧迫刺激を与えると、5 mmHg では僅かな求心性衝撃が得られる。つぎに 10 mmHg で圧迫すると、約 6 秒間続いて止む。しかし 20 mmHg で圧迫してみると求心性衝撃の持続する時間が非常に長くなり、約 1 分間求心性衝撃が続いた。これ以上刺激を強くするとかえって求心性衝撃が出にくくなるのがみとめられた。この adaptation curve は第8図Cに示してある。しかしその部分を圧迫した場合よりも、その部分を中心として伸展させた方が、よりよく求心性衝撃が発射するのが観察された。

b) Receptive field について

支配領域の広さを、正確に測定する事はこれらの材料に屈曲や、皺壁が多く困難であった。それで屈曲や、皺壁が消失する程度に引き伸ばして、刺激毛、又は細いガラス棒で刺激を与えて求心性衝撃が得られる部分を calipers で計り、大凡の面積を知った。腎臓、輸卵管、輸卵管網膜、子宮では順応性と receptive field との間に次表に示すような関係がみられた。

| 順 応 性 | receptive field 大凡の広さ |
|-------------|--|
| 速 い も の | 2×2 mm ² -5×5 mm ² |
| 中 等 度 の も の | 5×5 mm ² -15×15 mm ² |
| 遅 い も の | 10×10 mm ² -約 450 mm ² |

即ち腎臓の先端部、その附近の輸卵管網膜で見られる順応性の速いものの receptive field は非常に小さく、中等度の順応性を示すものはそれよりやや広い。ところが、第5図Bにみられる如く、順応性の遅いものの receptive field は非常に広いものが多かった。またこのように receptive field が大きい受容器の receptive field は同図に示すように、神経附着部の所から輸卵管、子宮の方に扇状に広がっているのが特徴的である。

c) Air inflation による観察

子宮、輸卵管の知覚受容器が、生理的に摂受

する刺激は、子宮壁又は輸卵管壁の伸展が、その主なものと思われるので輸卵管に空気を圧入して膨張させて実験を行ってみた。子宮でも同様に試みたが、技術的に困難を伴い実行不可能であった。しかし子宮壁、輸卵管壁からの求心性衝撃は前述のように非常に稀にしか得られず実験は困難であった。第7図に示すように、第5図と同じ標本を用いて、刺激毛、又はガラス棒で輸卵管壁の支配領域を定めてから、その支配領域が全部含まれるようにし、又上部輸卵管を空気がもれないように木綿糸でしばり、下部輸卵管を切り離して、その部分から20 ccの注射器を用いて、3 cc, 6 cc, 9 cc, 12 cc と順次階段状に空気を圧入することにより衝撃頻度が増加し、求心性衝撃の持続時間が長くなるのが観察される。又第7図Eに示すように、輸卵管に徐々に空気を増加していき、丁度矢印の所で約19 cc 圧入されたが、これが圧入される量の限

度と思われる。この量を維持することにより、求心性衝撃は非常に長時間持続し、約5分間続いて止んだ。これらの adaptation curve については第8図Dに示す如くである(19 cc 圧入の場合矢印の所から曲線をかく)。この様に一般に air inflation の方が、圧刺激を行った場合よりも、求心性衝撃の持続時間が長くなるように思われる。

上述のように、輸卵管に於ては全例、子宮でも大部分の例に於て順応が遅く、中等度の振幅の求心性衝撃しか得られないが、これは、どのような神経線維によるのであるかを調べるためにこれらの標本を、オスミウム酸で固定して光学顕微鏡で観察した。すると、有髄神経線維は非常に少なく、存在したとしても、腎臓附近の輸卵管網膜或いは子宮壁の一部に非常に細く数ミクロンのものが、網状になっているのを見ることが出来る。しかし、輸卵管、又はその附近

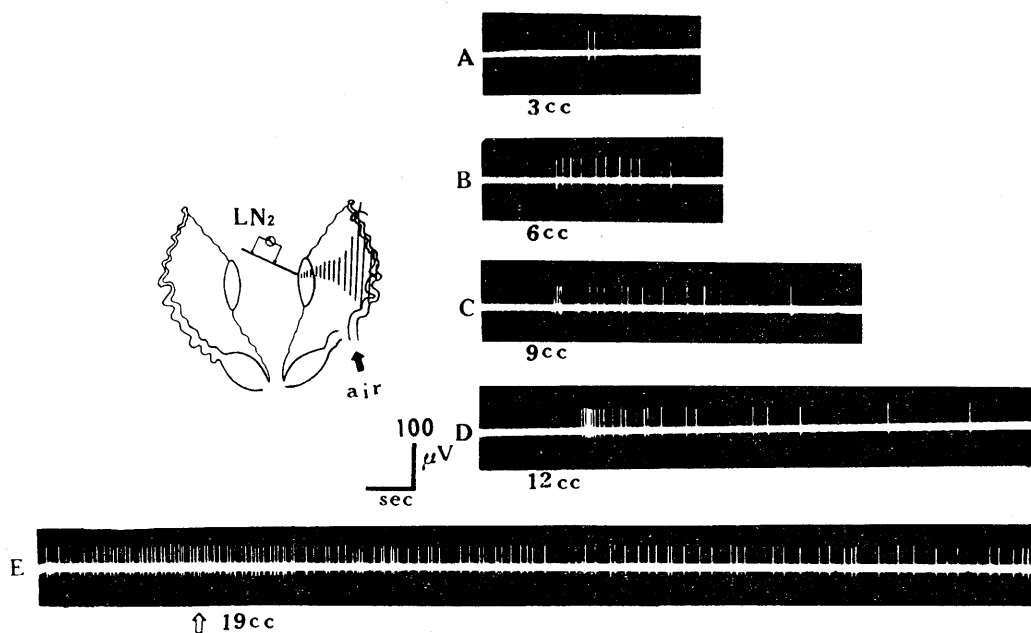


Fig. 7.

Impulses in a single unit of urogenital nerve trunk LN₂ during maintained distension of oviduct by air inflation.

Inflated air was gradually increased from 3 ml to 19 ml in oviduct.

A: 3 ml. B: 6 ml. C: 9 ml. D: 12 ml.

E: Volume of air was gradually increased and at arrow 19 ml of air was added.

Solid area: Sensitive part of the single unit.

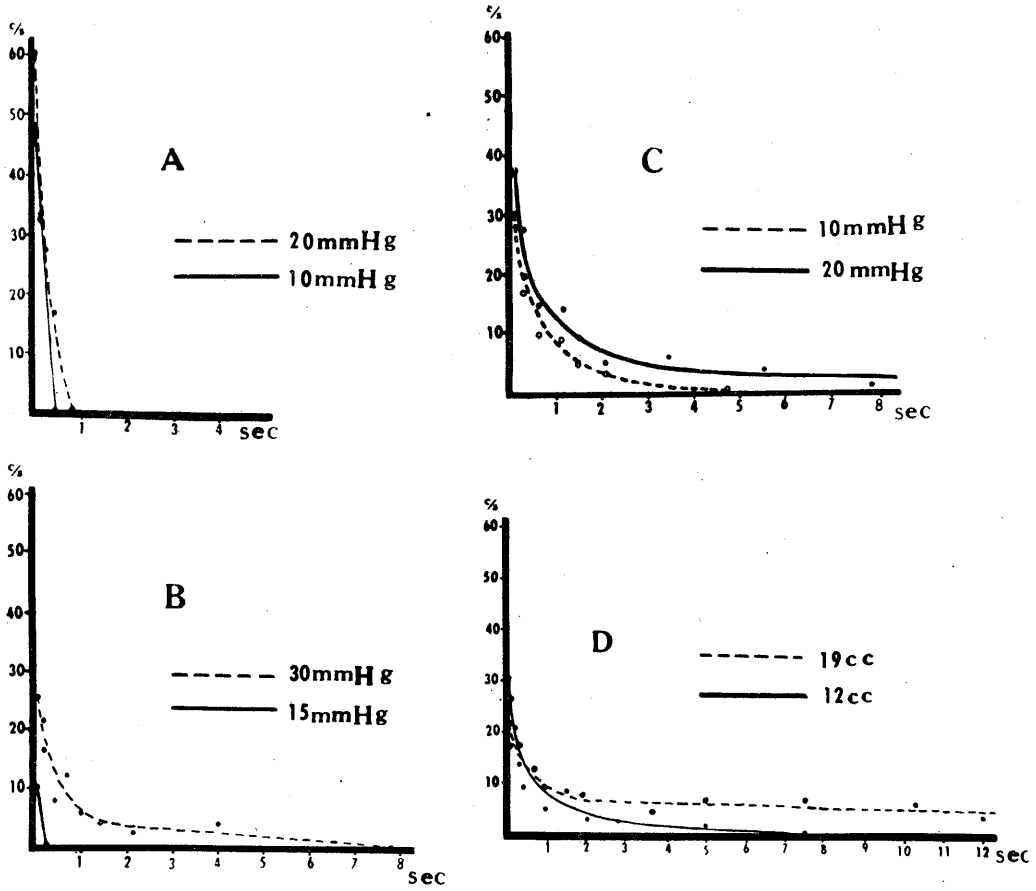


Fig. 8.
Adaptation presented in different nerve fibers.
Diagrams show the relationship between continuous mechanical stimuli and impulses.
A, B, C and D were taken from fig. 5 (A), 6, 5 (B) and 7 respectively.
Ordinates: Number of impulses per sec. Abscissae: Time in second.

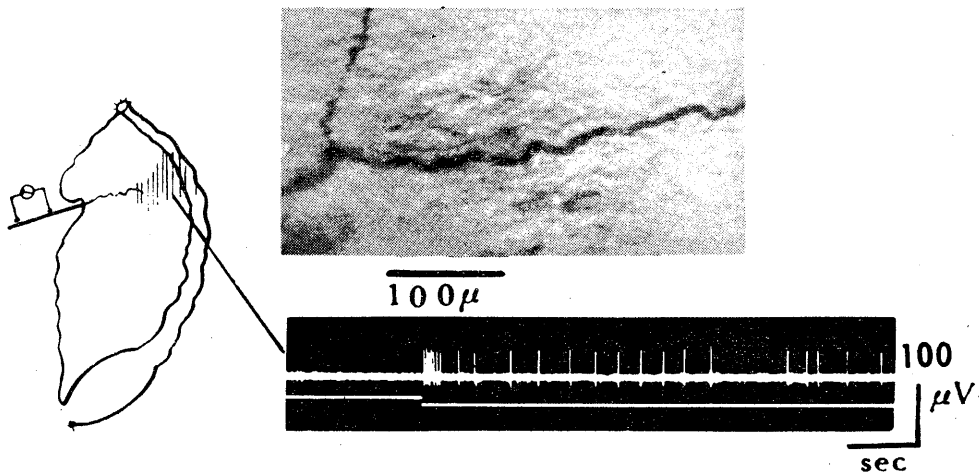


Fig. 9.
Afferent impulses recorded from a single fiber dissected from mesotubarium.
Shaded area shows the region sensitive to mechanical stimuli.
Photomicrograph shows the innervating nerve fiber detected from the shaded area.

の輸卵管網膜ではこのような，網状の細い有髄神経線維を観察することは出来なかった．ところが，特に上部輸卵管網膜では，第9図に示すように 7μ 程度の単一有髄神経線維が腎臓の方から多く枝分れして，輸卵管，時には子宮壁の方に走っているが，輸卵管，子宮に入る直前で髄鞘を失っているように見える．オスミウム酸で固定する前に同図の receptive field 内の一部に圧迫刺激を与え，この有髄神経を腎臓にできるだけ近い所で切断して，求心性衝撃を誘導してみると，第5図Bにしめす LN_2 神経枝からの求心性衝撃と殆んど同様の discharge pattern が得られる．このようなことは， LN_2 神経線維と，輸卵管網膜を走っている 7μ 程度の神経線維が，同一のものであることを示唆す

る．しかし腎臓の部分では標本が厚く神経の走行は観察出来なかった．輸卵管壁，又は大部分の子宮壁からの求心性衝撃は，このように比較的太い有髄線維からだけ誘導できた．

4) 求心性衝撃の生理学的意義

ガマは2月下旬頃より，冬眠から目覚め産卵期に入るが，その頃になると腹腔内にある卵が，輸卵管の繊毛運動により，子宮に入り貯蔵される．このように卵が子宮に充満している時には子宮が大きく膨らみ，子宮壁が相当に強く伸展されている．このような状態では，もし子宮に機械的刺激を与えて求心性衝撃が得られるような神経枝からは，第10図 LN_1 ， RN_1 ， RN_2 神経枝にみられるように，さかんな自発放電が観察される．ところが，子宮に充満している卵

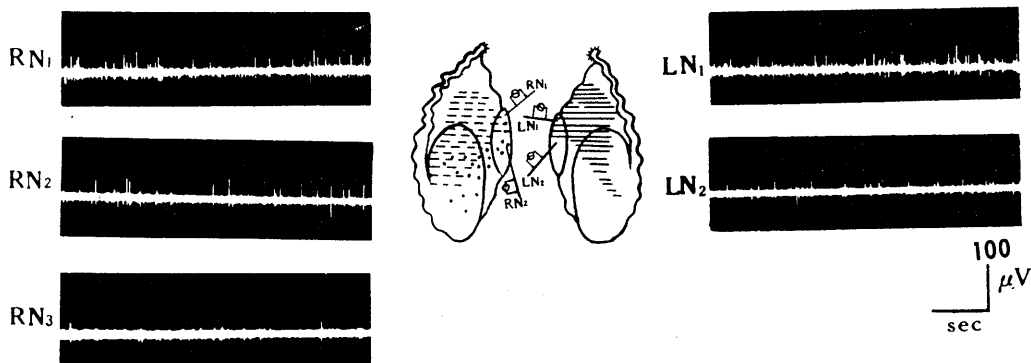


Fig. 10.

Spontaneous discharges in the urogenital nerve trunks in highly distended uterus with ova. No afferent discharges from RN_3 and LN_2 to mechanical stimuli. Solid, dotted and dashed area show the receptive area of LN_1 , RN_1 and RN_2 respectively.

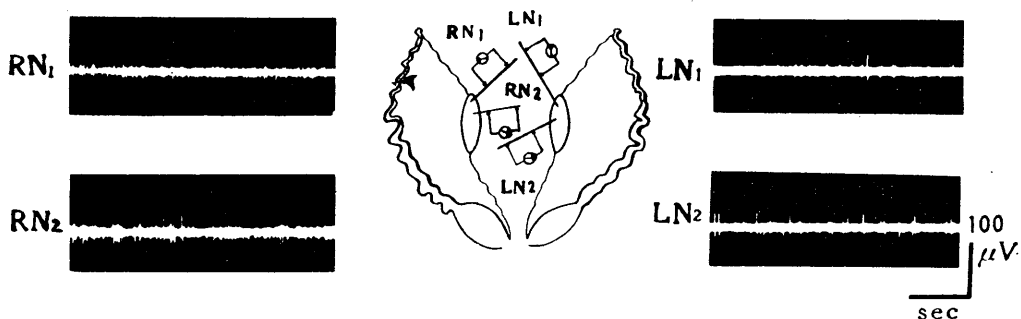


Fig. 11.

Decreased spontaneous discharges after removal of the ova from the same nerve trunks as shown in Fig. 10.

を排泄孔からとり除いてしまうと、第11図に示すように RN_1 , RN_2 , LN_1 神経枝からの自発放電は減少する。又子宮に機械的の刺激を与えても求心性衝撃が得られないが、その附近の輸卵管網膜に機械的の刺激を与えることにより求心性衝撃が得られるような神経枝からも、子宮に卵が充満している時の方が、卵を除去した時のものよりも、多くの自発放電が得られる例もあった。これは子宮が卵で充満されていると、子宮壁が極度に伸展するために、その附近の輸卵管網膜にも影響しているからと思われる。しかし、どの部分に機械的の刺激を与えても求心性衝撃が得られない神経枝からは、第10図 LN_2 , 第11図 LN_2 神経枝に示すように、子宮に卵が充満していても、除去した場合も、自発放電の量的変化はみとめられなかった。ここで注目すべきことは、この時期にはいずれの神経枝からも多かれ少なかれ自発放電が観察されることである。

第12図は子宮に卵が充満している状態であるが、 RN_1 , RN_2 , LN_1 , LN_2 神経枝からさかんに自発放電が観察される。これらの神経枝の支配領域は、腎臓、輸卵管網膜、子宮の一部である。 RN_1 神経枝についてみると、その支配領域内にある輸卵管網膜の (A_1) の部分に plastic plate により約 20 mmHg の圧迫刺激を与えることにより、それに応じて RN_1A_1 にしめすように求心性衝撃の数が明かに増加する。ところが、同じ神経枝の支配領域内にある、子宮壁の (B_1) の部分に同じ方法で圧迫刺激を与えても、 RN_1B_1 に示す如くそれに応ずる求心性衝撃の発射は明かでない。同様な所見で、 RN_2 , LN_1 , LN_2 神経枝についてもみられる。ところが同じ標本で、子宮から卵を除去してしまうと、第13図にしめすように、自発放電は明らかに減少してくる。このような状態では LN_1B_2 , LN_2D_2 , RN_1B_1 , RN_2D_1 の各神経枝に於て観察されるように、輸卵管網膜を圧迫した時と同様に子宮

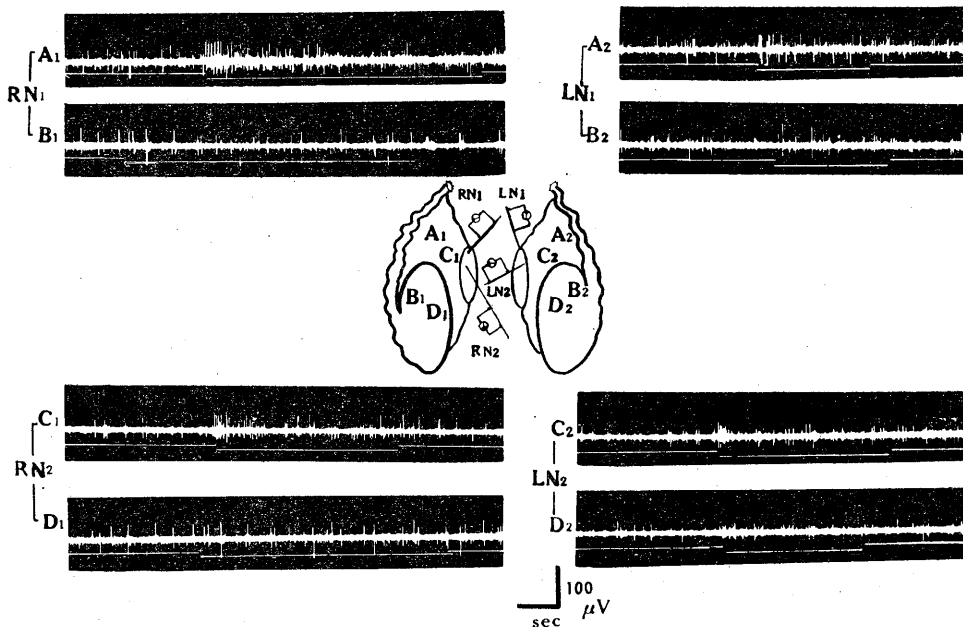


Fig. 12.

Influences of spontaneous discharges by mechanical stimuli to the sensitive regions innervated by the nerve trunks RN_1 , RN_2 , LN_1 and LN_2 in highly distended uterus with ova.

From left top to downward: Applied stimuli to shema A_1 , B_1 , C_1 and D_1

From right top to downward: Applied stimuli to shema A_2 , B_2 , C_2 and D_2 .

The impulses by mechanical stimuli to the uterus B_1 , D_1 , B_2 and D_2 were not clear.

壁の B₁, D₁, B₂, D₂ の部分に圧迫刺激を与えることによりそれに応じて求心性衝撃が発射するのが観察される. このように子宮に卵が充満している時には, 子宮壁に圧迫刺激を与えても, 反応が微弱であったり, 時には全然反応がないのは, 卵の充満により子宮壁は極度に伸展し, 最大刺激或いはそれに近い機械的的刺激を受けているため, それに圧迫刺激を与えても反応がおこらなかったり, 又反応が微弱であったりすると思われる. 以上のようなことから, 卵が子宮に充満している時の自発放電の一部は, 卵が子宮に充満することによる子宮壁の伸展のためであるということが出来よう. しかし, 子宮壁の伸展だけが自発放電の原因でないことは, 子宮に卵が充満していない時, 又いずれの部分に機械的的刺激を与えても求心性衝撃が得られない神経枝からもさかんに自発放電が観察されることで判る.

Progesterone, Estrogen と自発放電との関係

上述のように2月下旬頃から, 各神経枝からさかんに自発放電が観察されるが, このような自発放電が Progesterone, Estrogen により, どのような影響を受けるかを観察した. この場合, 温度による影響をも考慮して, 15-20°C と一定に保った箱にガマを飼い, 各6例について Progesterone, Estrogen を投与して観察した. なお対照として, ホルモンを投与しないガマでも4例実験を行った. 勿論, 実験室は 18-21°C にたった. 第14図は Progesterone を毎日 5mg づつ5日間投与した例であるが, 第16図に示すように, ホルモンを投与しないものと比較して大差を認めることは出来なかった. 第14図に於て LN₁, LN₂ 神経枝の支配領域内の一部に圧迫刺激を与えると, それに応ずる求心性衝撃の発射がおこる. これらの圧迫刺激によるものの spike pattern は自発放電によるそれと比較して, 明らかに異なり, 振幅が大きく, 経過の速いものである. LN₃, LN₄ からは圧迫刺激に応

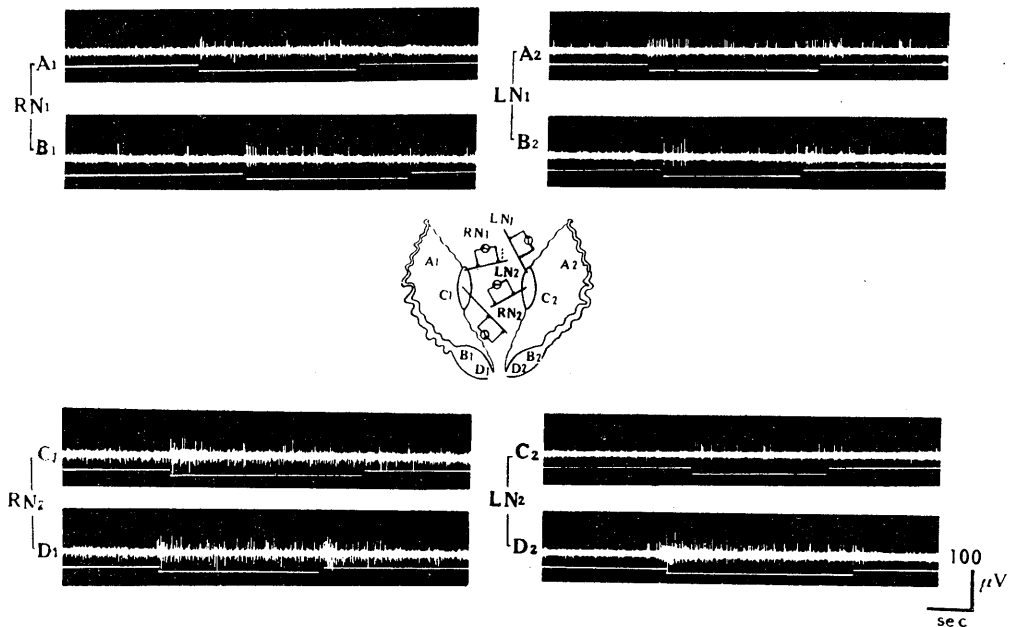


Fig. 13.

Influences of mechanical stimuli when the ova were removed from the same uterus as shown in Fig. 12.

Removal of the ova from the uterus caused the marked decrease of the spontaneous discharge. By mechanical stimuli to the uterus B₁, D₁, B₂ and D₂, however, the impulses clearly increased.

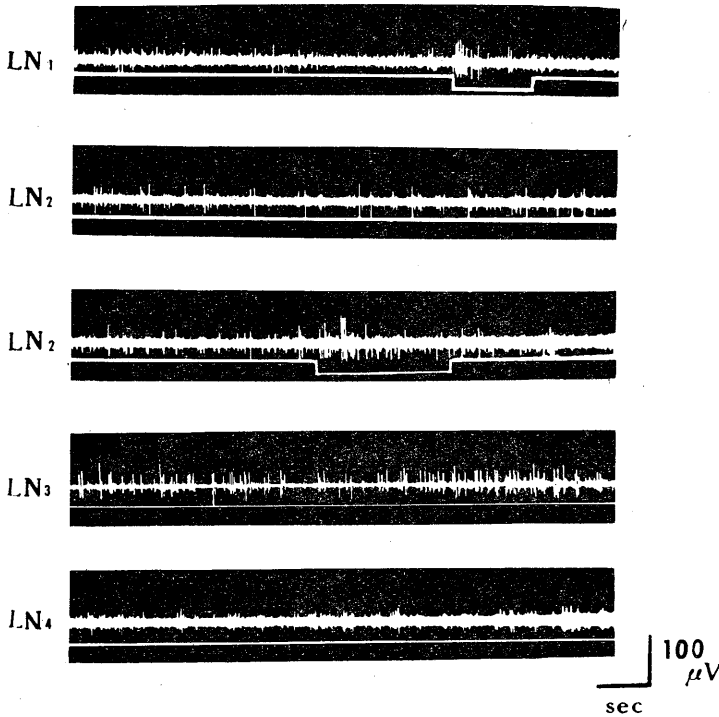


Fig. 14.

Spontaneous discharges from urogenital nerve trunks by injection of progesterone, 5 mg daily for 5 days, in breeding season.

No detectable changes in spontaneous discharges compared with hormone free toads (in Fig. 16).

From top to downward: Impulses in urogenital nerve trunks, LN₁, LN₂, LN₃ and LN₄.

Note: Relatively high amplitude of impulse discharges in urogenital nerve trunks evoked by mechanical stimulation.

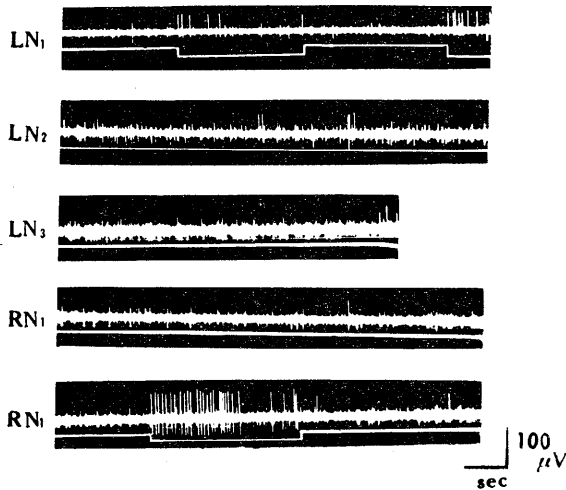


Fig. 15.

Spontaneous discharges from urogenital nerve trunks by injection of estrogen, 1 mg daily for 7 days, in breeding season.

No detectable changes in spontaneous discharges compared with hormone free toad.

From top to downward: Impulse discharges in urogenital nerve trunks LN₁, LN₂, LN₃, RN₁ and RN₁.

ずる求心性衝撃は観察されなかった。第15図は Estrogen を毎日 1 mg ずつ7日間投与した例であるが、各神経枝から同様に自発放電が観察される。LN₃ 神経枝からは圧迫刺激により求心性衝撃はみられないが、LN₁, LN₂, RN₁ 神経枝からは、同図に示すような各支配部位を圧迫することにより、自発放電の spike pattern とは明らかに異なる求心性衝撃が得られる。なお Progesterone 5 mg を7日間投与したものについて各3例実験を行ってみたが、同様な所見が観察された。又前述の plastic plate を用いて一定の圧迫刺激を与えて実験を行ったが、圧迫刺激に応ずる求心性衝撃の頻度及びその持続時間はこれらのホルモンを投与したもの、又は投与しないものに於て差異は認められないようである。

5) Plexus urogenitalis

の光学並びに電子顕微鏡的観察

透過光線のもとで、plexus urogenitalis の各神経枝を70倍の binocular stereomicroscope で観察すると、非常に厚い結締組織鞘に包まれた数十ミクロンの神経束をみる事が出来るが、有髄神経特有の輝きはみられず、神経か、結締組織鞘かを区別することは非常に困難であった。特に下部神経枝ではそうであった。これらの標本を、既述の如く、1% オスミューム酸磷酸緩衝

液で固定し，メタクリル樹脂で包埋したもの，マイクロトームにより，比較的厚く切片を作り，光学顕微鏡で観察すると，太い有髓神経線維は識別することは出来たが細い有髓神経線維及び無髓神経線維は輪廓がもやもやして識別することは出来なかった．それでこれらの標本をマイクロトームにより超薄切片を作り，電子顕微鏡により，はじめに低倍率で神経束全体を，次に拡大して微細構造を観察すると，これらの神経枝には，無髓神経が有髓神経と比較して圧倒的に多い．しかし神経枝によりかなり異なり，一般に上部神経枝では，比較的有髓神経線維が多く， N_1 神経枝では無髓神経線維が約60%で，有髓神経線維が約40%であるが，下部神経枝になるにしたがい無髓神経線維のしめる割合が多くなると思われる．無髓神経線維のしめる割合が最も多い例は左側 N_4 神経枝に於て観察されたが，その神経枝には有髓神経線維が3本（約10.3%）しか含まれておらず，他は全部無髓神経線維（26本，約89.7%）であった．この場合，無髓神経線維の数は所謂 family 1箇を1本と数えることにしたが，どこまでがその family に属するか明らかでないものも多いので数えるのが渋難であった．又数例の無作為抽出標本により207本の有髓神経線維の直径を計り，その分布を調べてみると，第17図のヒストグラムに示す如く， $1-4\mu$ のものが大半をしめている．最も細いものは約 0.5μ で，最も太いのが約 8.9μ であった．しかし直径が約 6μ 以上の有髓神経線維は非常に少なく，存在するとしても，上部神経枝，それも N_1 ，或いは N_2 神経枝に数本含まれていることが多いが，時には全然含まれていない事もある． N_3 或いは N_4 神経枝には，このように太い有髓神経線

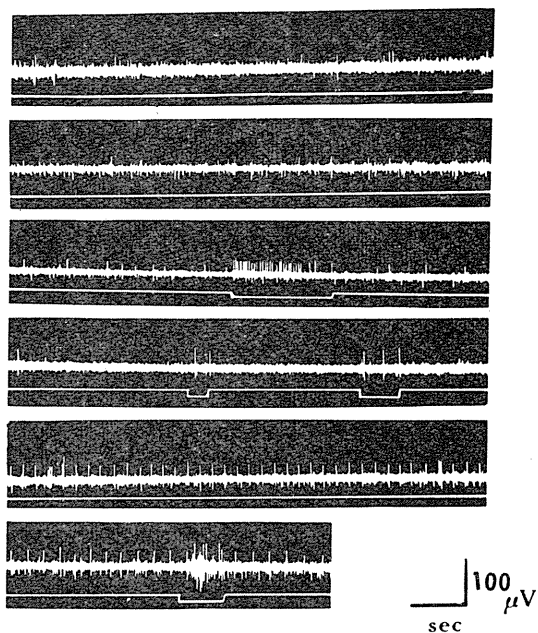


Fig. 16.

Spontaneous discharges and impulse discharges by mechanical stimulation in hormone free toad in breeding season.

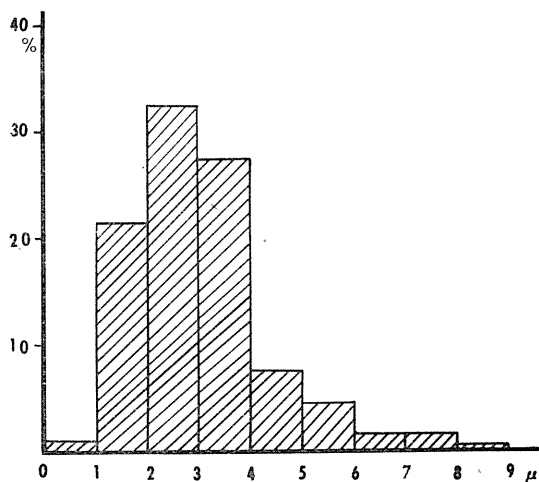


Fig. 17.

Histogram of diameters of myelinated nerve fibers in urogenital nerve trunks.

Total of 207 nerve fibers in urogenital nerve trunks were measured.

Ordinate: Diameter (micron).

Abscissa: Frequency (%).

維は殆んど観察できなかった．

又約 6μ 或いはそれ以上の有髓神経線維に於ては，髓鞘が比較的厚いのが特徴的であり，第

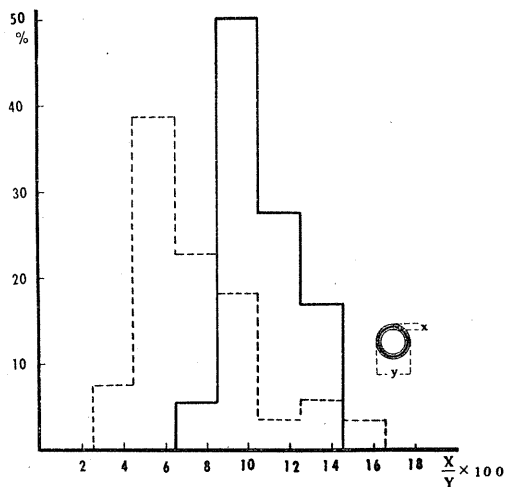


Fig. 18.

Relationship between diameters of myelinated nerve fibers and thickness of the myelin sheaths.

Solid line: 6 micra or more larger myelinated nerve fibers.

Dash line: 2 to 4 micra myelinated nerve fibers.

Ordinate: Ratio of the thickness of myelin-sheath to the diameter in the myelinated nerve fiber.

Abscissa: Frequency in per cent.

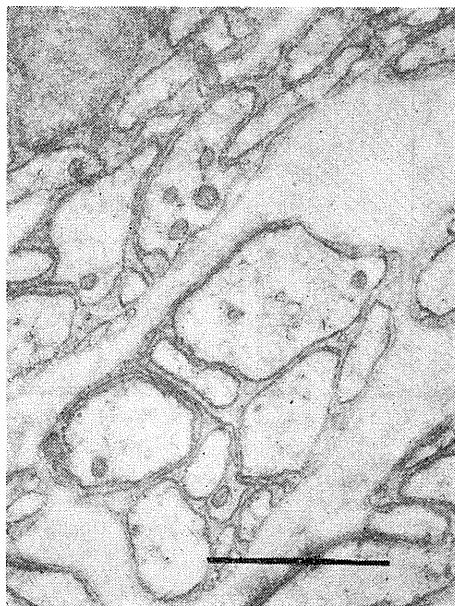


Fig. 19.

Transverse section of unmyelinated nerve fibers in urogenital nerve trunk.

Magnification: 48,000.

18図に示すように、有髓神経線維の直径（髓鞘までの外径）にたいして髓鞘のしめる割合が約10%前後のものが圧倒的に多い。しかし約6 μ 以下の有髓神経線維では、比較的髓鞘の厚いものと、比較的薄いものが存在する。無作為抽出標本により2-4 μ の有髓神経線維54本について調べてみると、第18図に示すように約6%前後のものが圧倒的に多いが、13-14%を中心にしたものも少数観察される。なお、0-2 μ 又は4-6 μ の有髓神経線維についても計測したが、髓鞘が比較的厚いものと薄いもの群に分かれた。これらの髓鞘の厚さは大凡0.1-0.6 μ の範囲にあり、各 myelin sheath の厚さは150 \AA 内外であった。無髓神経線維については、Gasser等により研究され、又最近内菌³¹⁾により巨大神経線維の構造が明らかにされているが、これらに記載されているものと同様に輸卵管、輸卵管網膜、子宮を支配する神経線維も、第19図に示すように、軸索は所謂二重膜構造を呈する軸索膜に包まれ、又軸索膜は Schwann 氏細胞質内を横切る二重膜構造を呈する結合膜によって Schwann 氏細胞の細胞膜に結合しているものと思われる。軸索原形質内には略楕円形の電子密度の濃い mitochondria が数箇観察されるものもある。又 Schwann 氏細胞の核は楕円形、或いは扁平で大きいものもあるが、小さいものもある。これは切断面の位置によると思われる。なお無髓神経線維はしばしば所謂 family を形成し、数本、時には十数本の無髓神経線維が1箇の Schwann 氏細胞の細胞質にとりまかれ、長短区々の結合膜によって Schwann 氏細胞膜に繋がれて存在する。

有髓神経線維は髓鞘を有すること、軸索が集って family をつくることがみられなかったこと等以外に、無髓神経線維とは差がないように思われる。

IV. 考 察

実験成績の所でのべたように、輸卵管、輸卵管網膜、子宮に機械的刺激を与えて、plexus urogenitalis の各神経枝より得られる求心性衝撃は

非常に少ない。特に下部神経に於てこれが著しい。又各神経枝の支配領域の中枢部より末梢部に同一程度の刺激を与えて観察すると、中枢側の腎臓に近い部分では burst 状の discharge が観察されるが、末梢側になるにしたがい反応が微弱になり、特に輸卵管又は子宮の近くでは spike の振幅が中等度で、その経過も中等度の単一或いは数本の神経線維によると思われる discharge pattern を示す例が多い。おそらくこれらの神経枝には、求心性線維が非常に少なく、又大部分の mechanoreceptor は腎臓或いはその周辺の輸卵管網膜に存在していることを意味する。又実験後に輸卵管網膜の部分をも 1% オスミウム酸磷酸緩衝液で固定して、光学顕微鏡で観察してみると、腎臓附近の輸卵管網膜には大及び小直径の有髓神経線維が観察されるが、末梢側、特に輸卵管に近いところでは殆どの場合、有髓神経線維はみられない。しかし輸卵管に機械的刺激を与えて求心性衝撃が得られるような標本をオスミウム酸磷酸緩衝液で固定して観察してみると、その receptive field 内に比較的太く 6-9 μ 程度の有髓神経線維が枝分れして存在しているが、おそらくこのような比較的太い有髓線維だけにより、輸卵管は求心性支配を受けていると思われる。しかし輸卵管はオスミウム酸磷酸緩衝液に染色されない無髓神経線維、又はオスミウム酸磷酸緩衝液に染色されるが、非常に細くて光学顕微鏡では観察することが出来ない有髓神経線維による求心性支配も考えられるが、輸卵管から得られる、求心性衝撃の spike pattern により、このような無髓神経線維或いは非常に細い有髓神経線維によるものではないと思われる。

次に単一線維による receptive field についてであるが、Tower³²⁾は家兎の角膜について電気生理学的方法によって研究した結果、1本の求心性線維に分岐して 50-200 mm² に及ぶ広範囲に分布していると報告し、新島はガマの内臓神経からの求心性衝撃の観察で1本の求心性線維が 200 mm² 又はそれ以上に達するものもあり、且つ多数の器管にわたって支配しているのは内

臓神経の特有な現象であろうと報告しているが、ガマの輸卵管では全例において、子宮では大部分の例において、receptive field が非常に広いのが特徴的であった。またこのように広い receptive field のものの求心性衝撃の spike pattern は全て遅順応のもので、その spike の経過及び振幅は中等大のものばかりであり、圧迫刺激よりも、伸展刺激の方が、求心性衝撃の持続時間が長くなる。この意味でこの receptor は伸展刺激が圧迫刺激より適合刺激であると思われる。おそらくこの receptor は stretch receptor なのかも知れない。内臓の stretch receptor に関しては、Paintal のネコによる一連の研究があるが、それによると胃の伸展受容器については順応の遅いものが大部分で、その他少数の順応の速いものが認められると報告している。その他、Iggo はヤギ又はネコで実験を行い、胃の mechanoreceptor からの求心性衝撃は順応が遅く、胃壁の伸展又は収縮によって衝撃を発すると報告している。その他 Evans³³⁾、Talaat³⁴⁾、坂川²⁸⁾等によって膀胱壁の伸展受容器についての報告があるが、子宮、輸卵管にもそのような伸展受容器が存在するのではなからうか。

その他、順応が速いものと、中等度のものが観察されるが、前者は輸卵管、或いは子宮に於ては観察されることなく、非常に稀に N₁ 神経枝からだけ誘導出来るが、腎臓の先端部或いはその周辺の輸卵管網膜に限られている。この場合の求心性衝撃は比較的軽い機械的刺激によく応ずるのが特徴的であった。おそらく、この receptor は田崎¹⁵⁾が報告しているガマの皮膚における touch receptor と似た性質をもつものと思われる。即ち中等度の順応性の衝撃は腎臓、腎臓周辺の輸卵管網膜、又は子宮の一部に於て観察されるが、これは比較的強い圧迫刺激でないと反応がおこらない。田崎はガマの皮膚の痛覚線維は直径が 3-4 μ で、刺激に対して順応が遅いと報告しているが、この点から考えると、おそらく痛覚に関する receptor と思われる。

坂川はガマ膀胱で順応性と receptive field との間には特別な関係を認めていないが、子宮、

輸卵管及び輸卵管網膜では一般に遅順応のものが receptive field が大きく、速順応のものは、receptive field が小さいことを観察した。

産卵期になると、各神経枝よりさかんに自発放電が観察されるようになるが、卵が子宮に充満している状態では、充満していない時と比較して、自発放電がよりさかんであるのは、子宮壁にある mechanoreceptor が卵の充満度を中枢に inform する役割を果しているものと思われる。しかし不思議なことは、それが mechanoreceptor からのものであれば、その mechanoreceptor からの求心性衝撃の順応が非常に遅いか或いは無順応のものでなければならない。しかし著者の実験では、このように極端に遅いか、又は無順応の求心性衝撃は観察出来なかった。産卵期になると、このような mechanoreceptor の順応を遅くするような因子が加わることも考えられる。後藤³⁵⁾は分娩後3-4日して殆んどすべての ovarian steroid が消失して、子宮筋の活動電位が 35 mV 程度になったウサギに Progesterone 5 mg を3日間投与すると膜電位は著明に上昇し 55 mV になり、又 estrogen 50 γ を注射した場合も 48 mV になると報告している。その他子宮筋は動物の種類、妊娠の有無、そしてその時期、性周期、疲労や stress の存在、栄養状態、年齢や体質といった多様な因子により左右されることは事実である。それで、これら性器を支配する神経もこれらの因子に左右されることは当然考えられることである。また Paintal は胃の伸展受容器は phenylguanide, 5-hydrotryptamin, nicotin, lobelin, adrenalin, glucose 等の薬物を aorta, 或いは superior vena cava の中に注入することにより求心性衝撃を発すると報告している。又最近福田³⁶⁾は、estradiol 及び testosterone は筋静置時、及び筋伸展にさいして射出される筋受容器からの求心性衝撃を増強せしめ progesterone はこれを減弱せしめると報告している。おそらく、子宮、輸卵管を支配する mechanoreceptor もこのような化学物質により影響されるかもしれない。或いは卵の成分により影響されて、同一 receptor

が別の反応をおこしているとも考えられる。しかし産卵期では卵が子宮に入っていない時でも、大部分の例において、各神経枝より自発放電が観察されるが progesterone, estrogen によって影響されるようなことはなかった。この自発放電の discharge pattern をみると、比較的振幅が小さく、経過が遅いものが大部分である。おそらく無髓神経線維によるものと思われる。

Plexus urogenitalis の各神経枝を光学並びに電子顕微鏡で観察すると、無髓神経線維が圧倒的に多いのが特徴的であるが、坂川が坐骨神経膀胱枝について電子顕微鏡的に観察した結果、無髓神経線維が約 60% で、有髓神経線維が約 40% と報告しているが、plexus urogenitalis の上部神経枝に於ては大凡その比率と同じであるが、下部神経枝特に N₄ 神経枝に於ては、無髓神経線維が大半をしめるようになる。

Bower²⁹⁾もウサギを用いて子宮の支配神経をオスミウム酸磷酸緩衝液で固定して観察した結果、大半が無髓神経線維であり、その中には機械的刺激に応ずるものがあると報告しているが、著者は無髓神経線維については詳しい観察は行わなかった。

次に有髓神経線維の直径の分布であるが、1-4 μ 程度のものが圧倒的に多い。最大で約 9 μ のものもみられるが非常に少ない。坂川²⁸⁾は坐骨神経膀胱枝に於て観察した結果、平均直径は 1.966 μ 、最高は 5.2 μ と報告しているが、plexus urogenitalis に於ては、それよりもやや太いものがみられるのが特徴的である。直径は有髓神経線維の髓鞘の円周を円周率で除した値であるが、重量法によって算出した値と略近似し、より簡便である。又有髓神経線維の髓鞘の厚さと直径との関係については、約 6 μ 以上の有髓神経線維に於ては髓鞘が比較的厚いものだけであるが、約 6 μ 以下のものに於ては、髓鞘が比較的厚いものと、薄いものと2種類が観察される。輸卵管、又は大部分の子宮からの求心性衝撃は約 6 μ 或いはそれ以上の有髓神経線維によるものであるから、おそらく、これらの有髓神

経線維も比較的髄鞘の厚い群に属しているものと思われる。しかしこの分離せる単一求心性線維を電子顕微鏡的に観察しようと試みたが、肉眼で見難いので、超薄切片を作ることが出来ず果さなかった。こうしてみると、腎臓附近の輸卵管網膜或いは子宮壁にみられるような小径の有髄神経線維にも髄鞘の厚いものと、薄いものがあり、髄鞘の厚いものが求心性線維で、髄鞘の薄い神経線維は節前線維をなす B-fiber かもしれない。髄鞘の厚い神経線維が求心性線維と仮定するならば、髄鞘の厚い神経線維は非常に少ないので、初めに求心性線維が非常に少ないだろうという予想と一致するものと思われる。

IV. 結 論

1) ガマの輸卵管、輸卵管網膜、及び子宮等に機械的の刺激を与えて、plexus urogenitalis の各神経枝より求心性衝撃を誘導し求心性神経支配について調べた。

2) 輸卵管は N₁ 神経枝により支配されることが最も多く、子宮は N₃-N₄ 神経枝により支配されることが多い。しかし子宮、及び輸卵管からの求心性衝撃は非常に稀にしか観察されなかった。

3) 輸卵管、輸卵管網膜、及び子宮はこれらの神経枝により overlap して支配されている。

4) 単一神経線維分離法により、impulse の順応性について調べてみると、腎臓附近の輸卵管網膜では3種類、即ち速いもの、遅いもの、及び中等度のものが観察されるが、輸卵管では1種類で順応の遅いものだけである。子宮に於ても大凡輸卵管の場合と同様であるが、順応の中等度のものも観察される。

5) 輸卵管に於ては、圧迫した場合よりも、空気を圧入して輸卵管壁を伸展した時の方が求心性衝撃の持続時間が長くなる。

6) 単一神経線維による receptive field は約 $2 \times 2 \text{ mm}^2 - 45 \text{ cm}^2$ であり、一般に遅順応のものは receptive field が大きく、速順応のものは小さいのが観察された。輸卵管では全部 receptive field が大きいものだけであった。

7) 子宮は卵が充満している時に子宮を支配する神経枝より、さかんに自発放電が観察されるが、これは子宮壁に存在する mechanoreceptor からのものと思われる。しかし卵を子宮からとりさった後の自発放電に関しては、その原因は明らかでない。

8) 電子顕微鏡観察によると、これらの神経枝においては無髄神経線維が非常に多い。有髄神経線維では直径が約 0.5μ のものが最小で、 8.9μ のものが最大であるが、 $1-4 \mu$ 程度のものが圧倒的に多かった。又約 6μ 以上の有髄神経線維では髄鞘が比較的厚いものばかりであるが、それ以下のものでは厚薄の2種類が存在する。

終りに臨み御懇篤なる御指導御校閲を賜った内 齒教授、又御鞭撻を頂いた産婦人科教室中山教授に衷心より感謝を捧げ、併せて新島助教授並びに教室の方々に深く御礼を申しあげます。

文 献

- 1) Kuntz, A. (1927) Visceral sensitivity and referred pain in autonomic nervous system. Lea & Febiger, Philadelphia, 399-421
- 2) Meigs, J. V. (1939) Excision of the superior hypogastric plexus (presacral nerve) for primary dysmenorrhea. Sug. Gynec. Obstet. **48**, 723-732
- 3) Cleland, J. P. G. (1933) Paravertebral anaesthesia in obstetrics: Experimental and clinical basis. Surg. Gynec. Obstet. **57**, 51-62
- 4) McGaughey, H. S., Weller, H. & Anslow, W. P. (1956) The effect of uterine stretch on the clearance of p-amino hippuric acid in the dog. Am. J. Obstet. Gynec. **72**, 589-593
- 5) Donovan, B. T. & Traczyk, W. (1960) Uterine distension and the vaginal cycle in the guinea-pig. J. Physiol. **154**, 50P
- 6) Franklin, K. J. (1952) Uterine influences upon intra-renal blood distribution. Lancet **263**, 1141-1144
- 7) Abrahams, V. C. & Pickford, M. (1958) The effect of distension of the uterus on the composition of urine of conscious dogs. J. Physiol. **141**, 527-534
- 8) Hatakeyama, Sh. (1956) Supplementary study on the fine structure of the oviduct and the mesosalpinx in man and their innervation. Arch. hist. jap. **11**
- 9) Oikawa. (1954) Sensory innervation of urogenital organs of fourth month female embryo. Tohoku

- J. epx. Med. **61** (瀬戸:「人の知覚」より引用)
- 10) Hoogkamer, J. (1913) Die Nerven der Gebärmutter. Arch. Gynäk. **99**
 - 11) Einthoven, W. (1908) Über Vagusströme. Pflügers Arch. **124**, 246
 - 12) Keller, Ch. J. und Löser, A. (1930) Die zentripetale Lungenvagus. Zeitschr. f. Biol. **89**, 373
 - 13) Adrian, E. D. (1933) Afferent impulses in the vagus and their effect on respiration. J. Physiol. **79**, 332
 - 14) 田崎一二 (1949) 日本生理誌 **11**, 4
 - 15) 田崎一二 (1944) 神経線維の生理学 河合書房
 - 16) Paintal, A. S. (1954) A method of locating the receptors of visceral afferent fibres. J. Physiol. **124**, 166-172
 - 17) Paintal, A. S. (1954) A study of gastric stretch receptors. Their role in the peripheral mechanism of satiation of hunger and thirst. J. Physiol. **126**, 255-270
 - 18) Paintal, A. S. (1957) Responses from mucosal mechanoreceptors in the small intestine of the cat. J. Physiol. **139**, 353-368
 - 19) Paintal, A. S. (1954) The response of gastric stretch receptors and certain other abdominal and thoracic vagal receptors to some drugs. J. Physiol. **126**, 271-285
 - 20) Iggo, A. (1955) Tension receptors in the stomach and the urinary bladder. J. Physiol. **128**, 593-607
 - 21) Tower, S. (1933) Action potential in sympathetic nerves, elicited by stimulation of frog's viscera. J. Physiol. **78**, 225
 - 22) Gernandt, B. & Zotterman, Y. (1946) Intestinal pain: An electro-physiological investigation on mesentric nerves. Acta Physiol. Scand. **12**, 56-72
 - 23) 新島 旭・松本義雄 (1958) 内臓の求心性神経支配について 医学と生物学 **46**, 230-233
 - 24) 新島 旭・松本義雄 (1958) 内臓の求心性神経の多重支配について 日本生理誌 **20**, 314-317
 - 25) Nijijima, A. (1960) The afferent impulses from single myelinated fibers in splanchnic nerve, elicited by mechanical stimulation of toad's viscera. Jap. J. Physiol. **10**, 42-50
 - 26) 新島 旭 (1958) 内臓の求心性多重支配について 生体の科学 **9**, 314
 - 27) Nijijima, A. (1959) The afferent innervation of the kidney and testis of toad. Jap. J. Physiol. **9**, 239-244
 - 28) 坂川邦彦 (1960) 膀胱の求心性神経支配に関する実験的研究 (神経因性膀胱機能障害の研究) 第2報 日本泌尿器学誌 **51**, 1091-1114
 - 29) Bower, E. A. (1959) Action potentials from uterine sensory nerves. J. Physiol. **148**, P 2
 - 30) Gasser, H. (1952) The neuron. Cold Spring Harbor Symp., Quant. Biol. **17**, 32
 - 31) 内菌耕二 (1959) 巨大神経; その構造と機能「興奮伝導の諸問題」73-86
 - 32) Tower, S. (1940) Unit for sensory reception in cornea with notes on nerve impulses from sclera, iris and lens. J. Neurophysiol. **3**, 486-500
 - 33) Evans, J. P. (1936) Observations on the nerves of supply to the bladder and urethra of the cat, with a study of their action potentials. J. Physiol. **86**, 396-415
 - 34) Talaat, M. (1937) Afferent impulses in the nerves supplying the urinary bladder. J. Physiol. **89**, 1-13
 - 35) 後藤昌康・西岡勝利・四位恒男・羽牟辛男 (1959) 子宮平滑筋細胞内電位よりみた妊娠経過ならびに分娩機転 生体の科学 **10**, 231-242
 - 36) 福田茂樹 (1957) 蛙の筋受容器及び皮膚受容器に対する性ホルモンの作用について ホルモンと臨床 **5**, (10号)

頻度特異波の条件付け 612.833.81

Conditioning of frequency characteristic repetitive response

下河内 稔 (SIMOKOUCHI-Minoru)*

Using unanesthetized cat or dog, conditioning was performed by application as unconditioned stimulus of electrical volleys to nuclear structures or of flicker preceded by some sensory stimulus (sound or light).

1. In the early stage of conditioning the enlarged generalized evoked potentials and the following generalized desynchronization of cortex with the synchronized activities at about 5 c/s in the subcortical structures were elicited by the conditioned stimulus. The "Hippocampal arousal pattern" disappeared when the frequency characteristic repetitive response was induced in the cortical regions.

2. The frequency characteristic repetitive response can be divided into spontaneous driving, time conditioning and conditioned response in narrow sense.

3. No characteristic can be noted between the areas where the frequency characteristic repetitive response is elicited, depending upon the site electrically stimulated or upon the modality of the conditioned stimulus.

4. A marked impairment in conditioning of frequency characteristic repetitive response was produced in the fornix destroyed cats, which showed rarely hippocampal arousal pattern throughout the same conditioning. However, nonspecific waves could be conditioned.

5. The roll of the brain structures, especially the hippocampal arousal system, which involves establishing the temporary connection in the EEG conditioning process is discussed.

I. 緒 言

条件反射の脳波的研究として、従来古典的末梢条件反射を指標にし、その形成過程における脳波変化から条件反射の生理学的機構を解析しようとする試み¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾の外に、例えば光刺激による α -blockingの如きある特徴的な脳波反応を条件付ける試み⁶⁾がなされており、これらに關してはすでに多数の報告がある。最近閃光刺激を条件付け刺激とする頻度特異脳波条件付けに關する成績が発表され、これが記憶痕跡の脳波的表現として注目されている⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾。著者は後者の脳波条件付けを更に発展させる目的をもって、閃光刺激を用いた方法とともに、間脳或は中脳の一部に与えられる電気刺激を無条件刺激とする方法をとり、これらの場合の条件付け過程における脳波変化を追究した。

吉井教授等¹⁵⁾は嘗て古典的条件付け（唾液或は防禦条件反射）の際に、脳幹の領域から3.5-6 c/s 波が現れ、それが皮質の脱同期を同時に伴うことから、この波が海馬覚醒系脳波であると想像した。著者は本研究において特にこれと同様な脳波変化が閃光及び電気刺激の条件付けの際に現れるか否か、更にこの背景脳波に現れる一般的な条件反応としての海馬覚醒型脳波と特異性を有する頻度特異波との関連を明らかにしようとした。更に末梢性並びに中枢性の条件反応の出現に海馬覚醒系が参加すると推定することが出来たので、海馬と脳幹との間の密接な連絡路として知られている脳弓を破壊した動物で同様な実験を行った。

II. 方 法

本実験には14匹の猫と2匹の成犬を用い、すべて慢性実験を行った。即ち皮質及び皮質下に予め電極を挿入し、手術の回復をまって実験を開始した。条件刺激（以下CSと略す）として

* 大阪大学医学部第2生理学教室(吉井直三郎教授)
2nd Dept. of Physiol., Osaka Univ. School of Med.
〔昭和36年11月10日受付〕

は 450 c/s, 1300 c/s の純音, 又は実験室の照明の点滅を用い, 無条件刺激 (以下 UCS と略す) としては電気刺激の場合は, 数 V, 0.1 msec の矩形波を, また閃光刺激を用いる時は顔前約 50 cm に置いたストロボスコープにより夫々 3-12 c/s の範囲で与えた. UCS は 6-8 秒与えそれに先行して CS を与えた. 条件付け間隔は 30 秒とし, 1 日の強化回数は 50 回以上とした. 動物を防音室に入れ, 可及的無拘束無麻酔のまままで実験を行ない, その経過中の脳波を記録した. 脳弓破壊実験には 5 匹の猫を用い, 脳弓 (Jasper¹⁶) の Atlas による Fr 13.5, H 5 を中心に) に定位的に挿入した双極電極に直流 10 V を与え, 4 段階に分けて左右上下 2 mm 範囲の電気凝固を行った. 尚電極及び破壊部位は実験後組織標本によって確認した.

Ⅲ. 結 果

動物は強化を始める前に CS (光又は音) に対する慣れ工作を行った. かくして不関刺激となった CS と閃光刺激或は脳幹の電気刺激 (UCS) を組合せて強化工作を行うことにより, CS のみで UCS と同頻度或は倍数の頻度をもつ脳波が 1 秒以上持続して出現した. この条件付けられた頻度特異波は, 消去工作により消去することによって確めることが出来た. 一般に頻度特異脳波は条件刺激中のみならず, 強化試行の間においても, 或は又条件刺激の直前においても現れる. 第 2 のものは実験環境が条件刺激になっていると考えられ, 第 3 のものは時間条件反射である. これに対し条件刺激中に現れた頻度特異波が狭義の条件反射性頻度特異波である. 慣れ工作による脳波変化はすでに前野¹⁷及び長谷川¹⁸が記述しているのと同様の成績であるから省略し, 2, 3 の実験例について条件付けの際の脳波変化について以下詳述することにする.

1. 頻度特異脳波の条件付け

症例 1, Dog 3

この動物では CS をベルとし UCS には 7 c/s の電気刺激を N. lateralis posterior thalami (LP) に与えた. ベル刺激は初め皮質の広汎性脱同期

と皮質下では Gyrus suprasylvius medius (GSM), N. anterior dorsalis (AD) および N. caudatus (Cd) に 5 c/s 波が出現したが, 150 回の反復により殆んど生じない程度になり, 即ち慣れ現象がみとめられた. LP に与えた電気刺激によって前頭部に誘発電位が現れたが, 棘のみであって, 増強反応は認められなかった.

CS と UCS の組合せで強化を行うと, 直ちに CS により誘発電位が広く現われるようになり, 20 回の強化では最も著明な皮質脱同期波が観察された (Fig. 1, A), 次いで CS 又は UCS の直前, 及び UCS 後, 或は強化間隔中に 3.5 c/s 波と 13.5 c/s 波が混って広く皮質下に出現するようになり, 時には CS により GSM-Cd 誘導や AD に 3.5 c/s 波 (海馬覚醒型脳波) が誘発された.

UCS による増強反応は強化の初期には認められなかったが, 強化を重ねることにより皮質特に前頭部に明瞭に出現するようになった. しかしながらこの増強反応の周波数は必ずしも UCS と同じ 7 c/s を示すのではなく, むしろ 6-6.5 c/s の場合が多かった. 800 回強化以後に UCS と同頻度の 7 c/s 同期波が CS の直前, CS の直後 (Fig. 1, B) 又は CS より約 2-3 秒おくれて, 丁度 UCS が与えられる時期に相当して前頭部に現れ, 且つ 1-2 秒持続した.

次にベル刺激の代りに消燈を用いた所, 同様な 7 c/s 波が前頭部に現れ, 且つこの汎化刺激 (消燈) による頻度特異波はベルを与えた時と同様に明瞭であった. この汎化効果の実験的消去を行うと, 頻度特異波は前頭部のみならず広く側頭部や Area 29 にも現れ, また刺激部位である LP には最も明瞭に認められた (Fig. 1, C). そして非強化にも拘らず, 120 回以上も消燈刺激のみの反復で出現した. しかもこの汎化現象は消去を行った翌日には認められなかった.

症例 2, Dog 5

この動物では最初 CS をベルとし, UCS には 7 c/s の閃光刺激を用いた. 実験前 190 回のベルの呈示によって, 慣れ工作が成立した. UCS を単独に与えると, Gyrus fornicatus 及び Colliculus

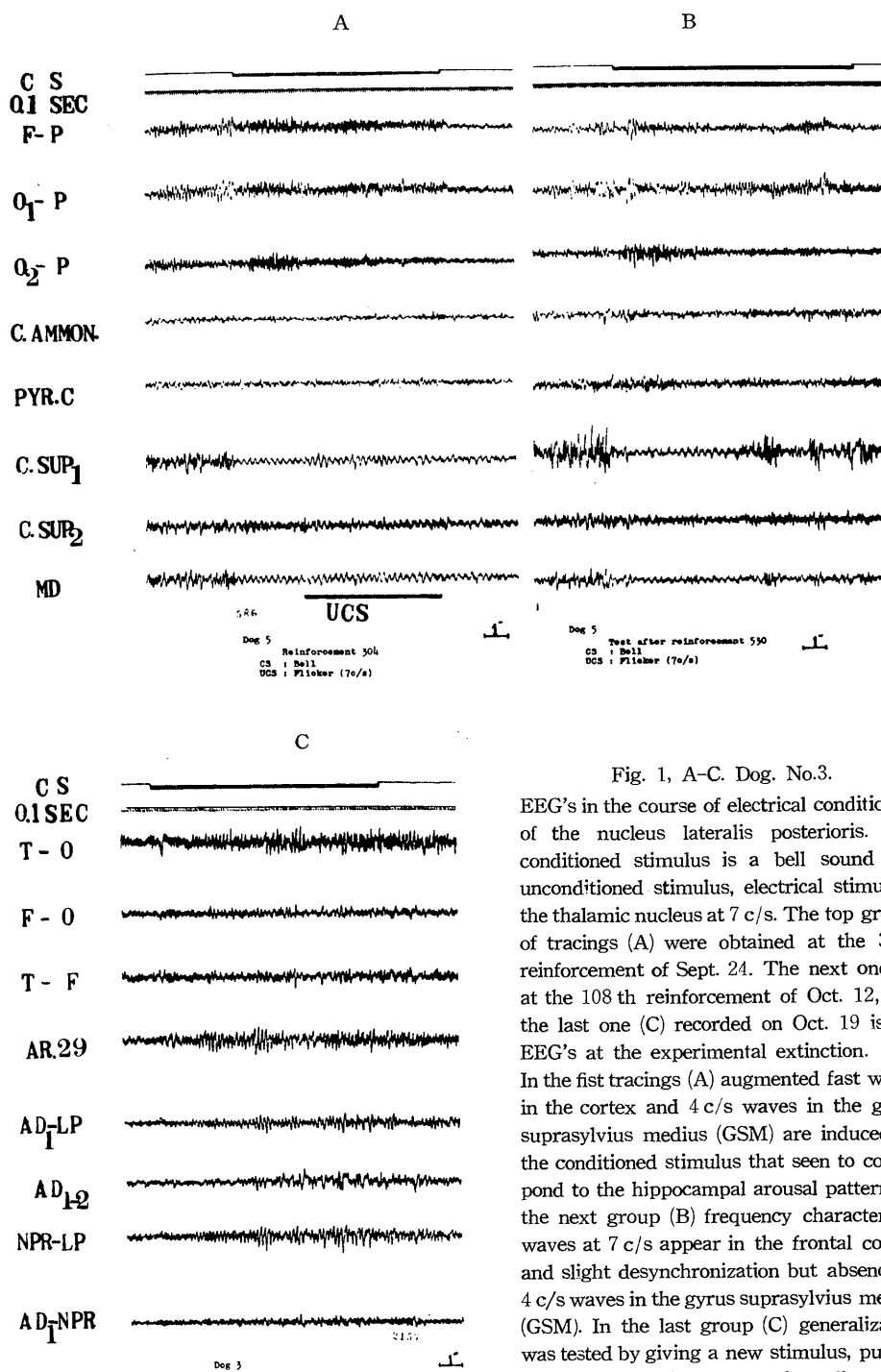


Fig. 1, A-C. Dog. No.3.

EEG's in the course of electrical conditioning of the nucleus lateralis posterioris. The conditioned stimulus is a bell sound and unconditioned stimulus, electrical stimuli to the thalamic nucleus at 7 c/s. The top groups of tracings (A) were obtained at the 34th reinforcement of Sept. 24. The next one (B) at the 108th reinforcement of Oct. 12, and the last one (C) recorded on Oct. 19 is the EEG's at the experimental extinction. In the first tracings (A) augmented fast waves in the cortex and 4 c/s waves in the gyrus suprasylvius medius (GSM) are induced by the conditioned stimulus that seen to correspond to the hippocampal arousal pattern. In the next group (B) frequency characteristic waves at 7 c/s appear in the frontal cortex, and slight desynchronization but absence of 4 c/s waves in the gyrus suprasylvius medius (GSM). In the last group (C) generalization was tested by giving a new stimulus, putting off the room light, and the effect was

extinguished by the repetition. This is an EEG's at the 86th experimental extinction. Frequency characteristic 7 c/s waves appear in the cortex, AR. 29 and nucleus lateralis posterioris (LP). Experimental extinction of more than one hundred times did not abolish them completely, but on the next day they disappeared.

sup. に 4 c/s 波が出現し、皮質では初め約 0.5 秒徐波が現れ、それに続いて脱同期が生じ、次いで閃光駆動反応が皮質全野に出現した。

ベルと閃光刺激との組合せを開始すると、CS により C. sup., Gyrus fornicatus に 4 c/s 同期波、皮質では脱同期が出現した (海馬覚醒型脳波)。強化十数回で皮質下の 4 c/s 波は CS 直後では出現せず、少しおくれて、即ち UCS が与えられる時点で発現するようになった。60 回強化後 C. sup. の 4 c/s 波は CS 中に約 10 c/s の不規則棘放電が現れるようになり皮質には変化がなかった。更に 130 回強化後 CS により C. sup. にそれまで現れていた 4 c/s 波は大きな棘放電となり、且つこの棘放電は MD にも出現し、同時に皮質では棘放電に一致して F, P に

6.5 c/s の同期波が現れるようになった。

更に強化 300 回で 7 c/s 波が CS で F に出現した。頻度特異波が CS によって 5-6 秒も持続して出現する時は、皮質の背景脳波は 2.5-3 c/s の不規則高振幅の徐波が見られることが多かった。

次いで CS を室内燈の点燈に代えてまずこれを habituate した。前の実験と同じく C. sup. に 4.5 c/s 波、皮質には脱同期が生ずるが、約 20 回の慣れ工作により点燈刺激は脳波的に不関刺激となった。UCS として MD に 5 c/s の電気刺激を与えたが、皮質では広汎に皮質下では Cornu Ammonis に増強反応が生じた。

両刺激の組合せによる強化の初期では、CS により皮質で脱同期、C. sup. では 4.5 c/s 波が

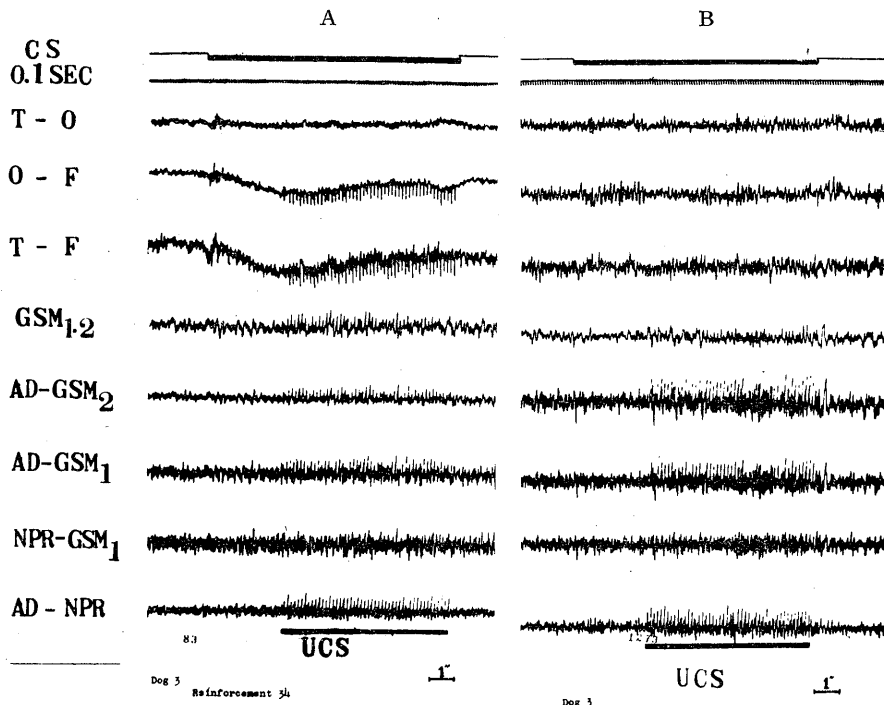
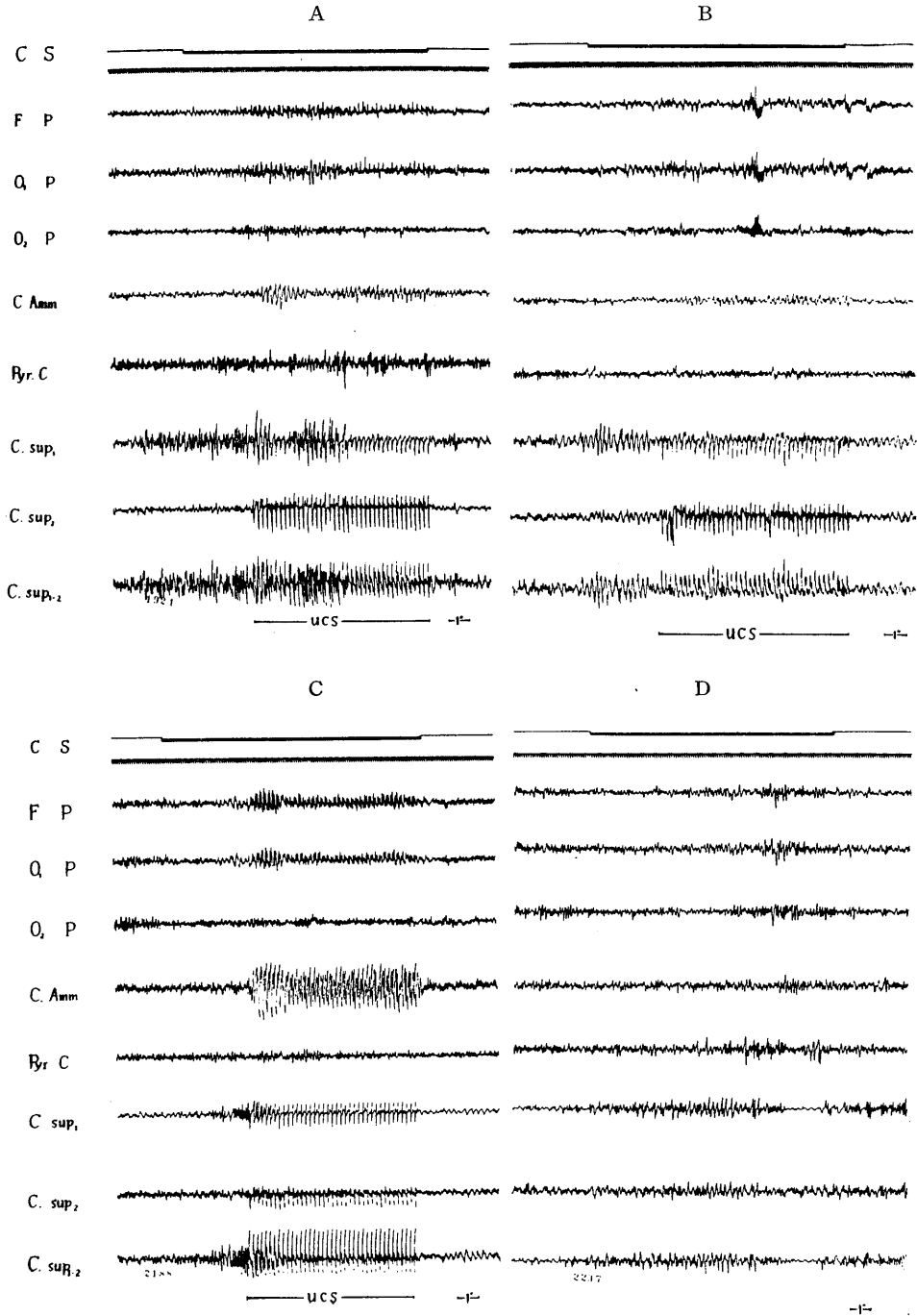


Fig. 2. Dog 5.

EEG's in the course of flicker conditioning. The conditioned stimulus is a bell and the unconditioned stimulus is flicker at 7 c/s. (A) was obtained at the 340 th reinforcement of Mar. 22 and (B) at 530 th reinforcement of Mar. 25. In the first tracing (A) augmented fast waves in the cortex and 4 c/s waves in the CS₁ and MD induced by the conditioned stimulus last during unconditioned stimulus. 7 c/s waves appeared in the parietal cortex just before the conditioned stimulus (time conditioning). In the second tracing (B) during the latter half of unconditioned stimulus the frequency characteristic waves at 7 c/s appeared in the cortex and the EEG's of the CS₁ and MD changed to irregular spikes.

出現したが、C. sup. の約 10 c/s の棘放電の出現は15回の強化で現れた。即ち前述の閃光刺激の条件付けに比し、少い強化回数で出現した (Fig. 3, A-C)。400 回強化で皮質下に見られた

4.5 c/s 波は消失し、棘放電と平坦の時期が交互に現れるようになったが (この 4.5 c/s の同期波が消えた時脳波は平坦になった)、この時期には皮質では速波は減少し、基本波が多く出現し



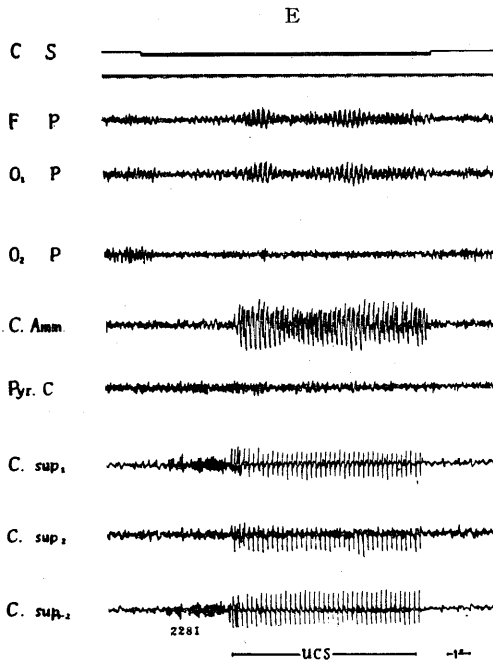
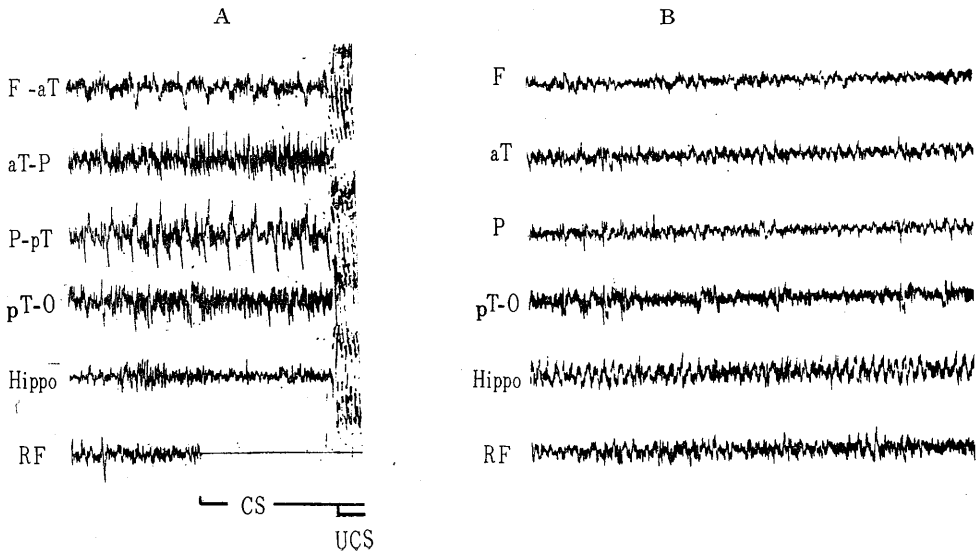


Fig. 3, A-E. Dog No. 5.

EEG's in the course of electrical conditioning of nucleus medialis dorsalis. The conditioned stimulus (CS) is putting on of the room light and the unconditioned stimulus (UCS), electrical stimulation of nucleus medialis dorsalis at 5 per second. The top record (A) was obtained at the 38 th reinforcement on Apr. 8, the next one (B) at the 134 th reinforcement on Apr. 9, the third one (C) at the 403 th putting on Apr. 11, the fourth (D) and the last ones (E) on Apr. 15.

Note in the top group (A) the synchronization at 4 c/s in the parietal cortex (P) and in the anterior part of the colliculus superior (C. sup₁) during the CS. Unconditioned response of synchronized waves is not seen in the cortex during the electrical stimulation. In the second group (B) frequency characteristic 5 c/s waves appeared in the parietal cortex (P) and 10-11 c/s spikes in the anterior part of the colliculus superior (C. sup₁). Unconditioned response of the cortex and cornu

Ammonis become observable. In the third group (C) just before the UCS, frequency characteristic 5 c/s waves appeared in the parietal cortex (P), and the spike discharges at 12 c/s in the anterior part of the colliculus superior (C. sup₁). Unconditioned response of the cortex and cornu Ammonis was pronounced. In the last two groups (D and E) experimental extinction was tested, the fourth group of tracings (D) is the EEG's at the 5 th extinction procedure. Frequency characteristic waves disappeared in the cortex but they were still seen in the anterior and posterior part of colliculus superior (C. sup₁ and C. sup₂). While in the last group (E) recorded at the 18 th reinforcement after extinction, frequency characteristic 5 c/s waves reappeared in the cortex with the spike discharges at 12 c/s in the anterior part of colliculus superior (C. sup₁).



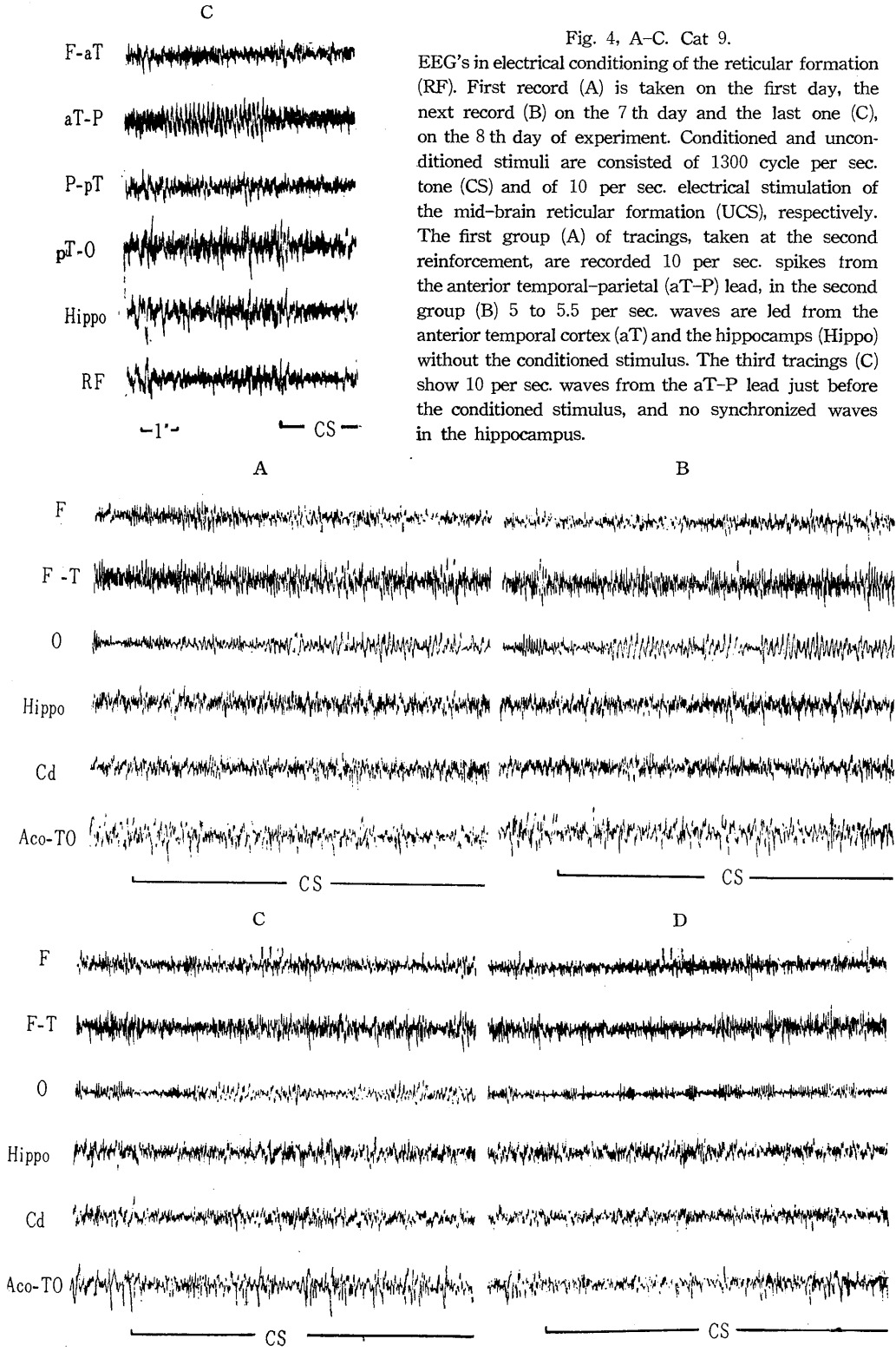
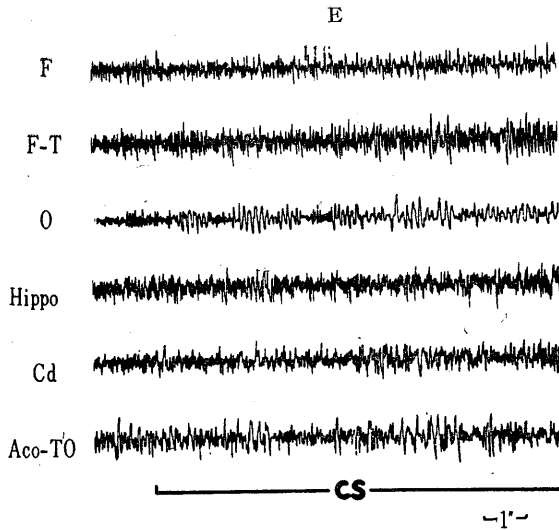


Fig. 4, A-C. Cat 9.
EEG's in electrical conditioning of the reticular formation (RF). First record (A) is taken on the first day, the next record (B) on the 7th day and the last one (C), on the 8th day of experiment. Conditioned and unconditioned stimuli are consisted of 1300 cycle per sec. tone (CS) and of 10 per sec. electrical stimulation of the mid-brain reticular formation (UCS), respectively. The first group (A) of tracings, taken at the second reinforcement, are recorded 10 per sec. spikes from the anterior temporal-parietal (aT-P) lead, in the second group (B) 5 to 5.5 per sec. waves are led from the anterior temporal cortex (aT) and the hippocamps (Hippo) without the conditioned stimulus. The third tracings (C) show 10 per sec. waves from the aT-P lead just before the conditioned stimulus, and no synchronized waves in the hippocampus.



showing the decreased characteristic waves. In the fourth record (D) are seen only the 15 c/s waves (harmonics), and the frequency specific response are completely extinguished at the 40th unpaired trial. While in the last record (E), taken at the test following a single reinforcement, slow waves at a frequency slightly less than 7.5 c/s arise from the occipital cortex.

Note the harmonics 15 c/s waves seen from the occipital cortex are more resistant to the extinction procedure than the specific 7.5 c/s waves. Other cortical waves are also influenced by the extinction procedure.

た。800回の強化でCSを与えた直後、或はCS中(UCSの直前)に5c/sの頻度特異波がP, Oに出現するようになった。C. Amm.はUCSに対する増強反応が著明に現れたにも拘らず条件反射性頻度特異波はみとめられなかった。

実験的消去により頻度特異波は消失し、皮質の脱同期と皮質下の4.5c/s波が再び現れるようになり(Fig. 3, D), 再強化により背景脳波は直ちに前述の条件付け完成時の脳波にもどり、そして25回の強化で頻度特異波が再出現した(Fig. 3, E)。

症例 3, Cat 9

1300 c/sの純音をCSとし、UCSとして中脳網様体に10c/sの電気刺激を用いた。慣れ工作後強化を開始したが、第1日目に側頭-頭頂誘導に(Fig. 4, A), 翌日には海馬に、又3日目には中脳網様体に頻度特異波が出現した。強化2日目で皮質脱同期と同時に5-5.5c/s波が海馬に出現し(海馬覚醒脳波)、この海馬同期波は数日の強化で消失し、CSの直前に頻度特異波が

Fig. 5, A-E. Cat 10.

EEG's in the extinction experiment of electrical conditioning of between the nucleus amygdaloideus corticalis and optic tract of the 3rd day of conditioning. Conditioned stimulus was room lightening (CS) and unconditioned stimulus, electrical stimulation at a frequency of 7.5 per sec. applied to between the nucleus amygdaloideus corticalis and the optic tract (UCS).

The first tracing (A) are taken at the first extinction procedure, showing frequency characteristic waves in occipital cortex (O). It is noted in the second record (B) at third extinction that the characteristic waves are becoming remarkable, but a little slower in the occipital cortex. The third record (C) is taken at the 10th extinction procedure,

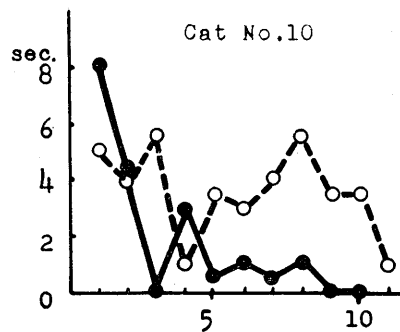


Fig. 6.

The time course of experimental extinction of frequency characteristic waves.

Frequency characteristic waves appeared in the occipital cortex in the case of Cat No. 10.

●-●: on the 2nd day of conditioning.

○-○: on the 3rd day of conditioning.

側頭-頭頂部に明瞭に出現した(Fig. 4, C)。

症例 4, Cat 10

UCSにはTr. Opticus-Amygdalaに7.5c/sの電気刺激を、CSには450c/sの純音を用いた。強化第1日目にはT-Oに、第2日目には海馬に第3日目には刺激部位に頻度特異波が出現

した。2日目及び3日目に夫々実験的消去を行ったが、その時の脳波を Fig. 5, A-E, Fig. 6 に示す。

小括:

条件付け過程における脳波変化を段階的に記述すれば次のようになる。

1) 頻度特異波が出現しない条件付け初期に於ては、CS による誘発電位が徐々に振幅を増し、それに続く広汎性皮質脱同期と脳幹の一部に約 5 c/s の波が現れる。

2) 条件付け作業を続けると頻度特異波が CS 提示と同時に出現するのみならず(狭義の条件反応)、CS の直前(時間条件反射)時には CS と無関係に自発性(自発性駆出波)に出現するようになる。

3) この頻度特異波は皮質に出現するが強化の初期では稀には皮質下の一部に出現する。

4) UCS としての動員反応、或は閃光駆動反応の出現部位とは無関係に頻度特異波は出現し、脳幹の同じ部位を刺激した場合でも動物によって頻度特異波の出現部位は異なる (Table 1)。

5) 頻度特異波は一度条件付けられると消去が困難であるが、一旦消去されるか、或は完全に消去されていなくとも翌日には自然回復は起らない。しかしながら数十回の再強化で再現し得る。

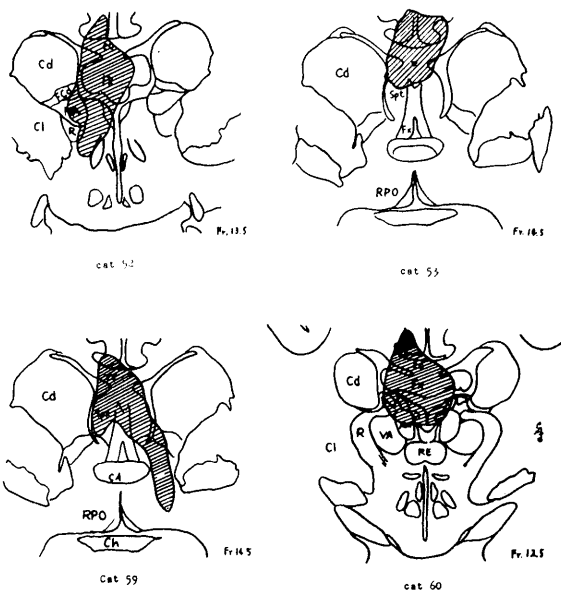
6) 条件反応としての広汎性皮質脱同期を伴った 3.5-6 c/s の同期波は、海馬及びその関連領域に出現する。この条件性海馬覚醒波は容易に消去され、且つ数回の再強化で再現する。海馬覚醒型脳波と皮質に現れる頻度特異波とは共存することなく、夫々分離して出現する。これらの所見は閃光、電気何れの刺激

Table 1.

| animal | CS | UCS | | Freq. charact. waves in | Hippo. arousal pattern in |
|---------|---------------|--------------|-----------|----------------------------|------------------------------|
| | | Position | Frequency | | |
| Cat 9 | 1300 c/s tone | RP | 10 c/s | T, RP(10c/s) | RP, Hippo(5c/s) |
| Cat 24 | light on | NR | 5 | Cin | RP(1c/s) |
| Cat 12 | 1300 c/s tone | NR | 6 | P, P, O, RP(NR) | RP, NR, LD-MD(1c/s) |
| Cat 103 | 1000 c/s tone | MD | 9 | (T) | R, Amy, CC, Hippo |
| Cat 12 | light off | LD-MD | 5 | O, RP, NR | RP, NR(1c/s) |
| Cat 104 | light off | CM | 9 | (O, P) | Spt, RP, Hippo |
| Cat 11 | light off | VA-VL | 5 | P, NR-NCP, Cd (5 or 10c/s) | RP, NR-NCP, Cd, VA-VL (1c/s) |
| Cat 12 | light on | Cin | 3 | P, P, O, NR(6c/s) | RP, NR (1c/s) |
| Cat 11 | light on | Cd | 3 | VA-VL | VA-VL (1c/s) |
| Cat 10 | light on | TO-Amy | 7.5 | O | Hippo |
| Cat 108 | light on | Hippo | 7 | O | RP |
| Cat 105 | 1000 c/s tone | Hippo-tyr. C | 7 | O(Hippo) | Hippo |
| Dog 3 | light on | LP | 7 | P(T, AR29, LP) | OSM |
| Dog 5 | light on | MD | 5 | O, P (CS) | CS, O, For(1c/s) |

Table 2.

Lesions of each cats projected onto the stereotaxic planes of the atlas of Jasper and Ajmone-Marsan.



を UCS にした場合も同様であった。

2. 脳弓破壊動物における条件付け

1. 破壊動物の行動

電気凝固により脳弓近傍を破壊した5例の動物 (Table 2) はすべて飼育室の隅でうづくまり自発運動の減退がみられ、摂食障害が現れ

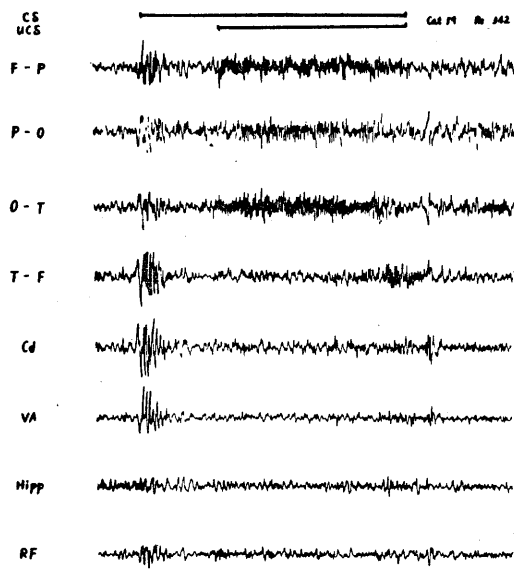


Fig. 7. Cat 59.

EEG's of the 342 th reinforcement in flicker conditioning.

The conditioned stimulus is a 400 c/s pure tone and the unconditioned stimulus is a flicker at 12 c/s. Note the appearance of the generalized synchronous spindle burst at about 6 c/s by the presentation of the conditioned stimulus.

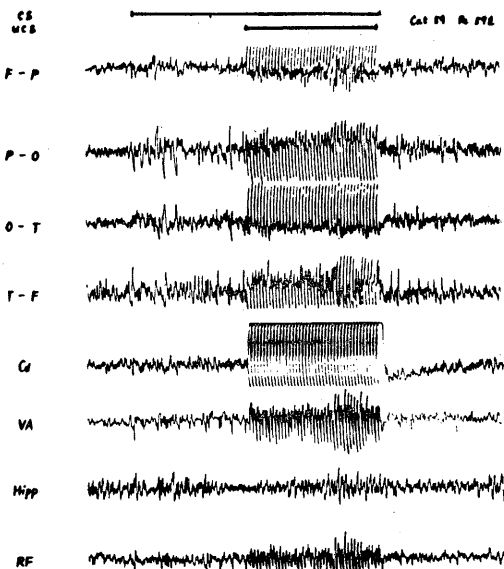


Fig. 8. Cat 59.

EEG's of the 572 th reinforcement in electrical conditioning.

The conditioned stimulus is a 1000 c/s pure tone and the unconditioned stimulus, electrical stimuli to the VPM at 7 c/s. Note the spike discharge induced by the conditioned stimulus in the occipital, temporal, N. ventralis anterior and reticular formation.

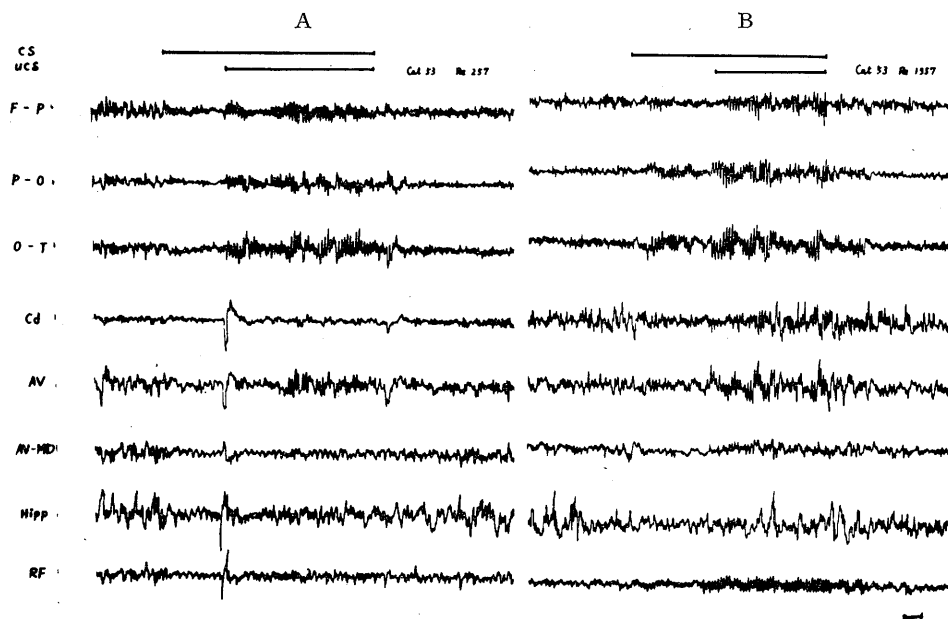


Fig. 9. Cat 53.

EEG's in the course of flicker conditioning. The conditioned stimulus is room light and flicker at 8 c/s as unconditioned stimulus. First tracing (A) is recorded at 257 th reinforcement and second tracing (B) at 1357 th reinforcement. Note in (A) the hippocampal arousal pattern in hipp, RF and AV-MD lead with cortical desynchronization and in (B) frequency characteristic repetitive waves from the occipital cortex and reticular formation.

Table 3.

Summary of Experiment

| Cat No. | Location of Lesion | CS | UCS | UCR | Hippocampal arousal pattern | EEGs after conditioning | | | Remarks | |
|---------|----------------------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|-------------------------|------------------------------|--------------------------------------|----------------|---|
| | | | | | | CS Spike | Interval Slow W. | during CS Non specif. Specific | | |
| 52 | CC, Px (Npr, Cin, s) | Bell | Flicker (8c/s) | F, F.O, RfG, Lf | no | RP, Lf | RPG, Lf | 2c/s slow waves (RPG, LF, RP) | no | |
| 53 | CC, Spt (Cd, Npr, Px, Cin) | Room Light | Flicker (8c/s) | F, I, O, AV | frequent (AV, RP, Hipp) | AV | AV | 6c/s or 12c/s (F, I, O, RP) | 8c/s (F, I, O) | Specific CR unstable 2c/s large slow waves (F, O, Cd, AV) after UCS |
| 59 | CC, Spt (Px, Npr) | 1000c/s tone | Flicker (12c/s) | F, F, O | rare | Amy. RP | no | 6c/s (VPM, Lf) or 13c/s burst (P, F) | no | Slow waves (O, T) or Spikes (LPM, LF) after UCS |
| 59' | ibid | 100c/s tone | ES (VPM, 7c/s) | F, NCl, RP | rare | no | no | 6c/s or 10c/s Spikes (F, P, NCF) | no | ibid |
| 60 | CC, Px (Cd, AV, R, Cin) | 1000c/s tone | ES (VIL, 7c/s) | F, I, LD | rare | no | I, O, T, Cd, LD (4c/s burst) | 4c/s Spikes (P, I, LD) | no | Continuous slow waves |
| 55 | ? | Room Light | ES (1.7c/s) | F, F, O | no | | | 3c/s waves | no | Sscape after 1300 trials |

た。従って手術後人工栄養の必要があり、一般に約3週間は自発的に食餌をとることが出来なかった。軽い運動障害が後肢に認められたものが2例 (Cat 52, 59) あり、又1例に斜視が見られたが、これらは約1ヶ月後には外見上ほぼ正常に回復した。背景脳波は術後1ヶ月では僅かに徐波、稀には棘波鋭波が散発することがあったが、正常動物と大差はない。視床の背側核に破壊が及んだ1例 (Cat 60) では4-5 c/s波が皮質皮質下に連続的に出現した。閃光駆動反応、増強反応の出現は正常動物と変りなく認められた。

2. 頻度特異波の条件付け

脳弓破壊猫ではCSによる海馬覚醒型脳波が出現しにくいことが特有であって、組合せを行ってもCSによる皮質脱同期は生ずるが、海馬覚醒型脳波は出現しなかった。しかし頻度特異波の条件付けは極めて困難であり、強化回数を正常動物で頻度特異波が生ずる程度(約800回)或はそれ以上2000回まで強化したが、ある例では頻度特異波は出現せず、ある例では出現してもその持続が短く且つ出現回数が稀であった。しかしながらこれらの動物に特異的にあらわれる脳波変化としては、条件付け工作によってCSにより2-3 c/sの徐波 (Cat 52), 6 c/s burst (Cat 59, Fig. 7) 或は棘波 (Cat 59, Fig. 8) 等が出現する点である、このような脳波変

化は条件付けによって出現した事から、条件反応性脳波と考えられるので、UCSの頻度とは異なるところの非特異条件性脳波と呼んだ。この非特異条件性脳波は皮質皮質下に広汎性に同時に出現する点でも頻度特異波とは異なると考えられる。脳弓の破壊が軽度で、破壊が予想した位置より高かった Cat 53 では正常動物の条件付け過程に見られた脳波変化、即ち海馬覚醒型脳波の出現が著明で、且つ明瞭に頻度特異波が出現した (Fig. 9)。破壊実験の結果をまとめると Table 3 の如くなる。

IV. 考 察

A. 条件付け過程における脳幹網様賦活系と海馬覚醒系の活動

吉井教授等は防禦或は唾液条件反射が次の如き段階を経て形成されることを脳波学的に証明している。即ち、

1) CSにより、広汎性誘発電位と、それに続く広汎性脱同期波が出現することから、第一の段階として、先ず脳幹網様賦活系が条件付けられる。

2) 第2の段階では、広汎性誘発電位の振幅が増加し、脳幹網様賦活系の興奮がやや抑えられる。

3) 海馬覚醒型脳波を思わせる同期波が脳幹に現われるようになる。

4) 末梢条件反射, 即ち防禦運動や唾液分泌はこれらの脳波変化が認められて後に始めて出現する。

5) 実験的消去を行えば, 強化におけるのと逆の順序で, 以上の脳波変化が消失する。

即ち上記の如く古典的条件反射の形成の際に脳構造は段階的に条件付けられ, 脳幹網様賦活系, 汎性視床投射系及び海馬覚醒系が条件付けに重要な働きを有することを指摘した。著者の行った頻度特異波の条件付けにおいてもこれらの古典的条件反射におけると同様に, 広汎性脱同期, 広汎性誘発電位の増大に次いで, 海馬覚醒型脳波が出現し, 夫々の系が段階的に参加することが証明された。

海馬覚醒型脳波が条件反射の一時的結合に重要な役割を演じていることは最近 Grastyán¹⁹⁾ 等も指摘している。彼等は猫の食餌行動および逃避運動の条件付けの実験で, 条件付けの最初は CS により海馬に脱同期が生じるが, 条件反応の最初の somatic sign に一致して海馬から Green and Arduini²⁰⁾ の記載した徐波 (本論文でのべた海馬覚醒型脳波) が出現するようになり, 更に強化を続けて条件反応が安定するようになると, この徐波の持続時間がかえって短くなり, 遂には再び脱同期になることを報告している。彼等はこの徐波の出現が与える刺激の強さに比例せず, 刺激の familization の程度に比例し, 且つ行動的には tonic orientation に一致するところから, この海馬徐波が一時的結合の進展を示す初期, 且つ不安定の指標であることを強調している。著者は彼等とやや意見を異にしている。即ち実験の初期において海馬覚醒波が出現し, 頻度特異波が出現する時は海馬性同期波が消失することは, むしろ海馬のもつ脳波覚醒水準の調節能が条件反射性頻度特異波を引出すところの引鉄作用をなすものと考えるのである。又脳弓破壊によって海馬覚醒波が生じないことは, 海馬系の活動が条件反射の形成に重要な役割をもつことを示唆するものであろう。

一方 Ralston²¹⁾ 等は視床内側核にペニシリン

を微量注入することにより皮質に現れている barbiturate burst が徐波化することを認め, 皮質の 8-12 c/s リズムが皮質下特に汎性視床系の活動変化によって影響をうけることを重視している。著者の得た頻度特異波は, その出現条件が覚醒時よりも軽眠期に現れること, その形状, その出現部位を考慮すれば spindle burst と多くの類似点があることを認めている。それ故頻度特異波も多分非特異回路を介して皮質に現れると想像されるのであるが, もしこの想像が正しいならば海馬系が汎性視床投射系の積分作用に何らかの影響を与えて頻度特異波出現に関与し引鉄作用をするだろうと想像することも許されるであろう。Grastyán 等は海馬覚醒波が制止作用を生ずること, しかも上向性賦活系と海馬との間には相互制御作用が存在すると推論している。

B. 古典的条件反射と頻度特異波条件付けとの比較

頻度特異波条件付けの際には, 広汎性誘発電位と脱同期が皮質に現れ, 同時に海馬, 中隔部, 中脳網様体, 網様核, 背側及び腹側視床核, 中心核, 尾状核に 4-5 c/s 波が出現するが, これに対して頻度特異波は基本波が皮質に見られる時期に現れ, 海馬覚醒波が出現しないような興奮準位において皮質に出現する。このことは閃光刺激を UCS に用いた時も電気刺激を用いた時も同様であった。

条件付けられた頻度特異波が皮質に現れるためには海馬覚醒型脳波が消失してむしろ軽眠期となることは前述の通りであるが, 頻度特異波の消去実験に於いては頻度特異波が消えた後に海馬覚醒型脳波が現れる如く, 消去工作は条件付け工作とは逆方向に経過する点は極めて興味がある。しかも古典的条件反射では数回の消去工作で末梢反応は消失するが, この際現れていた海馬覚醒型脳波は十数回の消去工作を経て消失する。これに対し症例 1 に示された如く頻度特異波は消去するのに数十回から百回も消去工作が必要である。このことは頻度特異波が基本的な脳波発生メカニズムを基盤として, それ

に条件付け工作により特異周波数を附加したものと考えるならば了解されるであろう。ここに基本的な脳波発生メカニズムと称したのは前述の汎性視床投射系の如きを想像しているのであって、頻度特異波が記憶痕跡の脳波的表現であるならば、「記憶」はその周波数を決定するpace-makerにとどめられると考えねばならないであろう。

C. 脳弓破壊と頻度特異波

脳幹破壊が条件反射に及ぼす影響については多くの報告がある。Kleindler²²⁾ は犬の防禦及び唾液条件反射について調べ、pontomesencephalic reticular formation の破壊は条件反射形成に影響はないと述べ、Doty²³⁾ 等も猫の防禦反応の場合、medial mesencephalic system は条件付けに必要でなく、若し必須な所がありとすれば mamillary body, field H₁ of Forel, centre median, habenulopeduncular tract であると指摘しており、両者とも末梢条件反射の場合、脳波的に脱同期の存在が必要ではあるが、下部網様体は破壊しても影響がないとしている。頻度特異波の条件付けに関しては Yoshii 等は閃光刺激の条件付けに於て、片側の centre median 破壊では条件付けが不十分ながら可能であるが両側の centre median を破壊すると頻度特異波の条件付けが出来なくなると述べ、又 Morell 等は猿で Amygdala にてんかん性焦点をつくった例で閃光刺激による条件付けが強く障害され²⁴⁾、又猫の視床髄板内核を電気凝固した場合には CS により paroxysmal hypersynchronous response が生ずると述べている²⁵⁾。

脳弓が脳幹諸構造との連絡については種々の報告があり不明な点が多いが、Green 等は海馬覚醒型脳波が脳幹を上向し、septum, dorsal fornix を通ってくる求心性刺激により誘発されその海馬同期波は海馬から mamillary body を経て視床及び limbic cortex に拡がることを報告している。

著者の脳弓破壊実験とこれらの成績とを考え合せると、頻度特異波条件付けに汎性視床系及び扁桃核海馬系の活動が重要な役割を演じてい

ることが推察されよう。

V. 要 約

無麻酔の犬及び猫を用い脳幹の電気刺激或は閃光刺激を UCS とし、それに先行する音又は光と組合せて、条件付けを行った。

1) 条件付けの初期には CS による誘発電位の振幅の増大と皮質脱同期を伴う約 5 c/s 波が脳幹諸核に出現する。しかるにこの海馬覚醒型脳波は頻度特異波が皮質に出現する時には消失する。

2) 条件付け工作によって現れる頻度特異波は、自発性駆動波、時間反射性反応及び狭義の条件反射性反応の3つに分けられる。

3) 頻度特異波は皮質に現れるが、その出現部位は無条件反応の出現部位とは必ずしも関係がない。又 CS の種類とも無関係である。

4) 脳弓破壊猫では同様な条件付け工作によっても海馬覚醒波は殆んど出現せず、非特異条件反射性脳波は出現するが、頻度特異脳波を条件付けることが出来なかった。

5) 脳波条件付けの際の脳波変化から、一時的結合の形成に参加する脳構造について論及し、特に海馬覚醒系の果す役割について考察した。

(本論文の要旨は第7回日本脳波学会、第57回日本精神神経学会総会、第37回日本生理学会総会及び高次神経活動モスコロキウムに於て発表した。尚研究費用の一部は文部省科研費辺縁系研究班の援助をうけた。)

稿を終るに臨み、終始懇切な御指導と御校閲を賜った吉井教授、並に御協力いただいた第2生理及び第3解剖教室の諸兄に心から感謝いたします。

文 献

- 1) Yoshii, N. (1955) Principes méthodologiques de l'investigation électroencephalographique du comportement conditionné. Fédération Intern. d'EEG et de Neurophysiol. Clin. Colloque de Marseille, EEG Clin. Neurophysiol., Suppl. 6, 75
- 2) Yoshii, N, S. Maeno and Y. Hasegawa (1957) Electroencephalographic study of conditioned reflex. J. Physiol. Soc. Japan 19, 706
- 3) Yoshii, N. and S. Maeno (1958) An electroencephalographic study of conditioned salivary reflex.

- Folia Psychiat. Neurol. Japon., **12**, 296
- 4) Yoshii, N. and Y. Hasegawa (1959) An electroencephalographic study of conditioned avoidance reflex. *ibid* **13**, 320
 - 5) Yoshii, N. and H. Yamasaki (1959) Electroencephalographic study on delayed and trace conditioned reflexes of defensive movements. *Med. J. Osaka Univ.*, **10**, 185
 - 6) Jasper, H. H. and C. Shagass (1941) Conditioning the occipital alpha rhythm in man. *J. Exper. Psychol.* **26**, 373
 - 7) Morrell, F. and H. H. Jasper (1956) Electrographic studies on the formation of temporary connections in the brain. *EEG Clin. Neurophysiol.*, **8**, 201
 - 8) Yoshii, N., P. Pruvot and H. Gastaut (1957) Electroencephalographic activity of the mesencephalic reticular formation during conditioning in the cat. *EEG Clin. Neurophysiol.*, **9**, 598
 - 9) Yoshii, N. and W. J. Hockaday (1958) Conditioning of frequency characteristic repetitive EEG response with intermittent photic stimulation. *EEG Clin. Neurophysiol.*, **10**, 487
 - 10) Yoshii, N., J. Matsumoto and Y. Hori (1958) Electroencephalographic study on conditioned reflex in animal. *Premier Congr. Intern. Scien. Neurol., Bruxelles, Juil.*, 21-28 (Rapports 313)
 - 11) Yoshii, N., J. Matsumoto, H. Ogura, M. Shimokôchi, Y. Yamaguchi and H. Yamasaki (1960) Conditioned reflex and electroencephalography. *EEG Clin. Neurophysiol., Suppl.* **13**, 199
 - 12) Yoshii, N., M. Shimokôchi and Y. Yamaguchi (1960) Conditioning of frequency characteristic repetitive response with electrical stimulation of some thalamic structures. *Med. J. Osaka Univ.* **10**, 375
 - 13) Morrell, F., J. Barlow and M. A. B. Brazier (1960) Analysis of conditioned repetitive response by means of the average response computer. Recent advance in biological psychiatry. Edit. Joseph Wortis, Grune and Stratton, London, 123
 - 14) John, E. R. and K. F. Killam (1960) Studies of electrical activity of brain during differential conditioning in cats. *ibid.*, 138
 - 15) 吉井直三郎・松本淳治・前野重喜・長谷川義治・山崎秀一・下河内 稔・山口雄三・清野茂博・堀泰雄 (1959) 神経研究の進歩 **3**, 116
 - 16) Jasper, H. H. and C. Ajmone-Marsan; A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat. The national research council of Canada.
 - 17) 前野重喜 (1958) 唾液条件反射の脳波学的研究 神経研究の進歩 **3**, 203
 - 18) 長谷川義治 (1959) 犬防禦条件反射の脳波学的研究 神経研究の進歩 **3**, 955
 - 19) Grastyán, E., K. Lissák, I. Madarász and H. Donhoff (1959) Hippocampal electrical activity during the development of conditioned reflex. *EEG Clin. Neurophysiol.*, **11**, 409
 - 20) Green, J. D. and A. Arduini (1954) Hippocampal electrical activity in arousal. *J. Neurophysiol.*, **17**, 533
 - 21) Ralson, B. and C. Ajmone-Marsan (1956) Thalamic control of certain normal and abnormal cortical rhythm. *EEG Clin. Neurophysiol.*, **8**, 559
 - 22) Kleindler, A., J. Ungher and D. Volaschi (1959) Influence of circumscribed injury to the brain stem reticular formation upon higher nervous activity of dogs. *J. Physiol., USSR. (Russ)* **55**, 261
 - 23) Doty, R. E., E. C. Beck and K. A. Kooi (1959) Effect of brain stem lesions on conditioned reflex of cats. *Exp. Neurology*, **1**, 360
 - 24) Morrell, F., C. Roberts and H. H. Jasper (1956) Effect of focal epileptogenic lesions and their ablation upon conditioned electrical responses of the brain in the monkey. *EEG Clin. Neurophysiol.*, **8**, 217
 - 25) Morrell, F.; An anatomical and physiological analysis of electrocortical conditioning. *Premier Congr. Intern. Scien. Neurol., Bruxelles, Juil.*, 21-28 (Rapports 378)

Abbreviations

- Aco: N. amygdaloideus corticalis.
 AD: N. anterior dorsalis.
 AR 29: area 29 (gyrus splenialis).
 aT: anterior temporal cortex.
 C. Amm: cornu Ammonis.
 Cd: N. caudatus.
 Cin: cingulate cortex.
 C. sup: colliculus superior.
 F: frontal cortex.
 G. For: Gyrus fornicatus.
 GSM: gyrus suprasylvius medius.
 Hippo: hippocampus.
 LD: N. lateralis dorsalis.
 LP: N. lateralis posterior.
 MD: N. medialis dorsalis.
 NCP: N. commissurae posterioris.
 NPR: N. praetectalis.
 NR: N. ruber.
 O: occipital cortex.
 P: parietal cortex.
 pT: posterior temporal cortex.
 Pyr. C: pyriform cortex.
 RF: formatio reticularis.
 T: temporal cortex.
 TO: tractus opticus.
 VA: N. ventralis anterior.
 VL: N. ventralis lateralis.

When two electrodes are in the same structure, numbering is made to every one of them.

辺縁系電気刺激による条件付けの研究 612.833.81

(その1) 海馬低頻度刺激による紡錘波の条件付けについて

Conditioning of limbic system stimulation effects

1. Conditioning of spindle burst discharges induced by low frequency stimulation of dorsal hippocampus

山口 雄 三 (YAMAGUCHI-Yuzo)*

Using unanesthetized cats and dogs, conditioning of hippocampal recruiting responses was established, applying electrical volleys to the dorsal hippocampus as UCS preceded by some sensory stimulus (CS). The results were in the following:

1. In the early stage of conditioning, generalized evoked potentials and the following hippocampal arousal pattern with restlessness were induced by CS. In the later stage, this arousal pattern and behavioral change disappeared, when conditioned characteristic waves could be witnessed in the cortices. In this case, conditioning seems rather difficult to be established, while it was not easily extinguished.

2. In the course of conditioning, spindle bursts were often evoked during or immediately after UCS and later on they could be seen during CS. These spindles were supposed to be similar to sleep spindles because of their wave form, frequency, sites of appearance and behavioral changes (dropping the head, closing the eyes and relaxing neck muscles).

3. It is worthy of note that these animals often showed behavioral changes suggestive of experimental neurosis (irritation or sleep) in the course of electrical conditioning of hippocampal complexes.

1. 緒 言

頻度特異波の条件付けに関する研究は、最初閃光刺激により (Morrell and Jasper, 1956¹⁾; Yoshii, Pruvot and Gastaut, 1956²⁾, 1957³⁾; Yoshii and Hockaday, 1958⁴⁾), 次いで脳幹諸核の電気刺激によって (Yoshii et al., 1958⁵⁾; Yoshii, Shimokôchi and Yamaguchi, 1960⁶⁾) 行われて来た。殊に吉井教授らは、犬及び猫に於いてこれらの条件反射形成過程に皮質皮質下脳波を同時記録し、広汎性誘発電位、広汎性脱同期および海馬覚醒型脳波が出現することから、これらの条件反射の形成に脳幹網様賦活系、海馬扁桃核系が関与する事を指摘し、条件反射性頻度特異波が皮質に出現する時には、脳幹の海馬覚醒型脳波が消えることを明らかにした。

著者は本研究に於いて、海馬を低頻度で電気刺激することによって生ずる脳波反応及び行動変化を条件付けようと試み、更に興味ある知見を得た。

II. 実験方法

本実験には雑種成犬3匹、及び成猫8匹を雌雄を問わず使用した。予め皮質皮質下に慢性電極を挿入固定し、数日乃至数週後、手術創の治癒を待って条件付けを開始した。

条件刺激としては、500 c/s, 1000 c/s 又は 1500 c/s 純音 (中等度の大きさ) を用いたが、1例では消燈を用いた。無条件刺激は、6-9c/s, 0.1-1 msec, 5-12 V の矩形波電気刺激で、海馬に挿入固定された一対の記録電極を通じて与えられた。無条件刺激は、海馬性動員反応を起すが、発作放電にはならないよう、注意して使用した。無条件刺激は 3-8 秒与えられ、条件刺激は 2秒または 3秒それに先行し、無条件刺激と同時に終る様組合わされた。組合せ刺激

* 大阪大学医学部第2生理学教室(吉井直三郎教授)
2nd Dept. of Physiol., Osaka Univ. School. of Med.
〔昭和36年11月10日受付〕

は、30秒又は60秒に1回宛、毎日約50回与えた。

以上の実験の経過中、その形成過程を追って予め皮質皮質下に用意しておいた電極より脳波を誘導し記録した。脳波記録は三栄測器8素子又は6素子インク書き脳波計によった。動物は薄暗くした防音室内で四肢を軽く拘束した状態にあり、実験者は防音室外にあって脳波の記録、刺激の操作等を行い、同時に窓を隔てて動物の状態を観察した。

深部脳波の誘導電極は、直径0.28mm stainless steel線でアラルダイド系塗料を塗布して絶縁状態の完全を期し、先端0.5mmを露出したものを2本宛1-2mm間隔に固定し一対として挿入した。皮質誘導電極は時計用小型螺子で、これを各領野に相当する頭蓋骨に埋没し、何れも歯科用レジンをを用いて頭蓋骨に固定し、且つ完全に被覆した。皮質皮質下電極は、原則として同側に挿入した。

深部電極の位置は、組織学的検索によって決定した。

Ⅲ. 実験成績

全実験例について述べることは冗長に亘るので、はじめ数例の動物について条件付け工作及び実験的消去に伴う脳波及び末梢反応の変化を記述し、その後でこれらの変化の一般的性質を

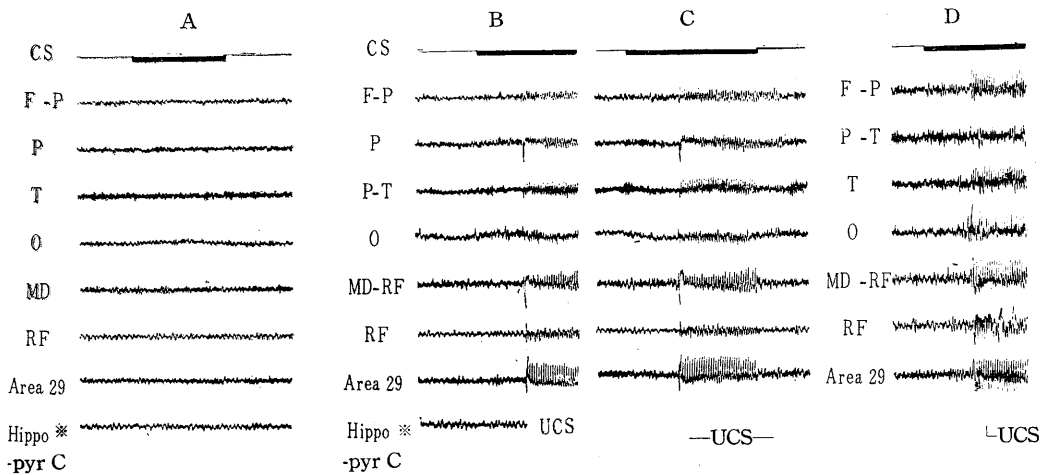
まとめることにする。

第1例 Dog. No. 202 ♂

条件刺激としては1000 c/s tone、無条件刺激は dorsal hippocampus-pyriform cortex に対する7 c/s 電気刺激(1 msec, 8 V)を用いた。

はじめ条件刺激で cortex に generalized desynchronization 及び hippocampus, reticular formation に約5 c/s synchronization が現れたが、行動上では殆んど変化がなかった。此の所謂脳波的探求反応、即ち海馬覚醒型脳波は、5日間500回以上の慣れ工作によって殆んど habituate された。無条件刺激によって起る動員反応は、n. caudatus, n. medialis dorsalis, area 29 及び frontal, parietal and temporal cortices に見られ、waxing and waning を示すが、行動上は時に探求反射を起す以外、殆んど変化がなかった。

数回の強化工作の後には、条件刺激で generalized evoked potentials に続く hippocampal arousal pattern が現れる様になり、10回強化後では一層著明となった。更に強化を続けると、fronto-parietal cortex に無条件刺激の直後に、afterdischarge の形で7 c/s 波が時に出現した。350-400回強化の後には、条件刺激中に7 c/s 波がしばしば fronto-parietal cortex に、稀には temporal and occipital cortices, area 29等にも現れる様になった。かような条件反射



1 SEC

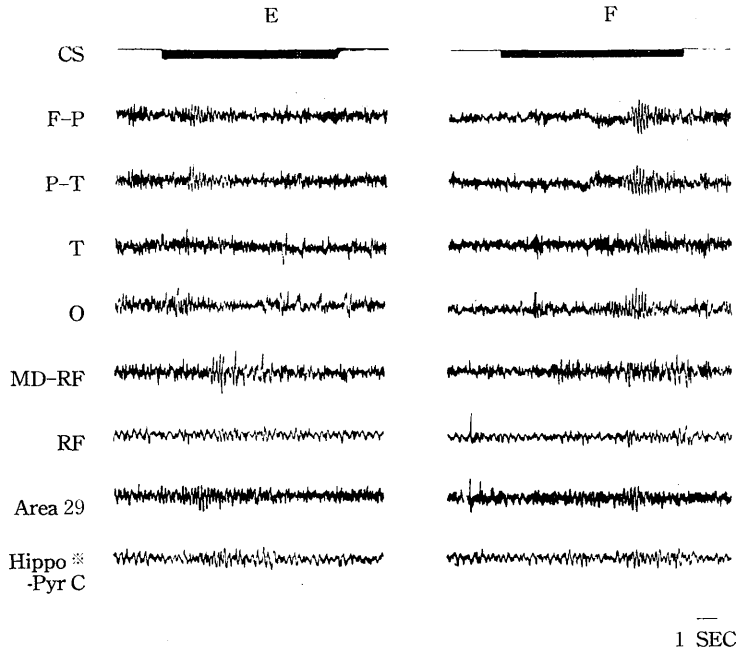


Fig. 1, A-F. Dog No. 202.

EEG's in the course of electrical conditioning of dorsal hippocampus-pyriform cortex. The CS is 1000 c/s tone and the UCS, electrical stimulation of dorsal hippocampus-pyriform cortex at 7 c/s.

A. After completion of habituation. Little change was observable during the CS.

B. At the 9th reinforcement. Generalized evoked potentials followed by hippocampal arousal pattern appeared during the CS. 4 c/s synchronization was recorded from RF and Hippo-Pyr C.

C. At the 37th reinforcement. 7 c/s afterdischarges were evoked in the fronto-parietal cortex immediately after the UCS.

D. At the 618th reinforcement. Frequency characteristic 7 c/s waves appeared in the fronto-parietal cortex during the CS, when 4 c/s subcortical synchronization (RF) disappeared.

E. At the first unpaired trial in the process of experimental extinction. Conditioned characteristic waves were clearly seen in the frontal, parietal and area 29 leads.

F. At the 24th unpaired trial in the process of experimental extinction. Frequency characteristic 7 c/s waves appeared widely in the cortices and area 29. Experimental extinction of more than 300 times could abolish them completely.

性頻度特異波が皮質に現れる時は、皮質下の約 5 c/s synchronization は不明瞭となっていることが注目される。

此の例では、全部で1200回強化の後に消去工作を行ったが、消去20回頃から条件反射性頻度特異波は一時的に却って全皮質及び area 29 に拡がって頻回に出現する様になり、これを完全に消去するには、3日間に約300回の消去工作を必要とした (Fig. 1, A-F)。

第2例 Cat No. 112 ♀

条件刺激には 1000 c/s tone を用い、型の如く慣れ工作を行った後、dorsal hippocampus-

area 29 に対する 7 c/s 電気刺激 (0.5 msec, 12 V) を組合せた。無条件刺激によって動員反応は、n. amygdaloideus lateralis, n. medialis dorsalis, parietal and temporal cortices 及び contralateral dorsal hippocampus に見られた。

20-30 回強化工作の後に、条件刺激で hippocampal arousal pattern (皮質の desynchronization と hippocampus の 4-5 c/s synchronization) が起る様になった。更に強化を続けていくと、強化 200-300 回頃から hippocampal arousal pattern は不明瞭となる傾向があり、条件反射性頻度特異波は皮質 (parietal and

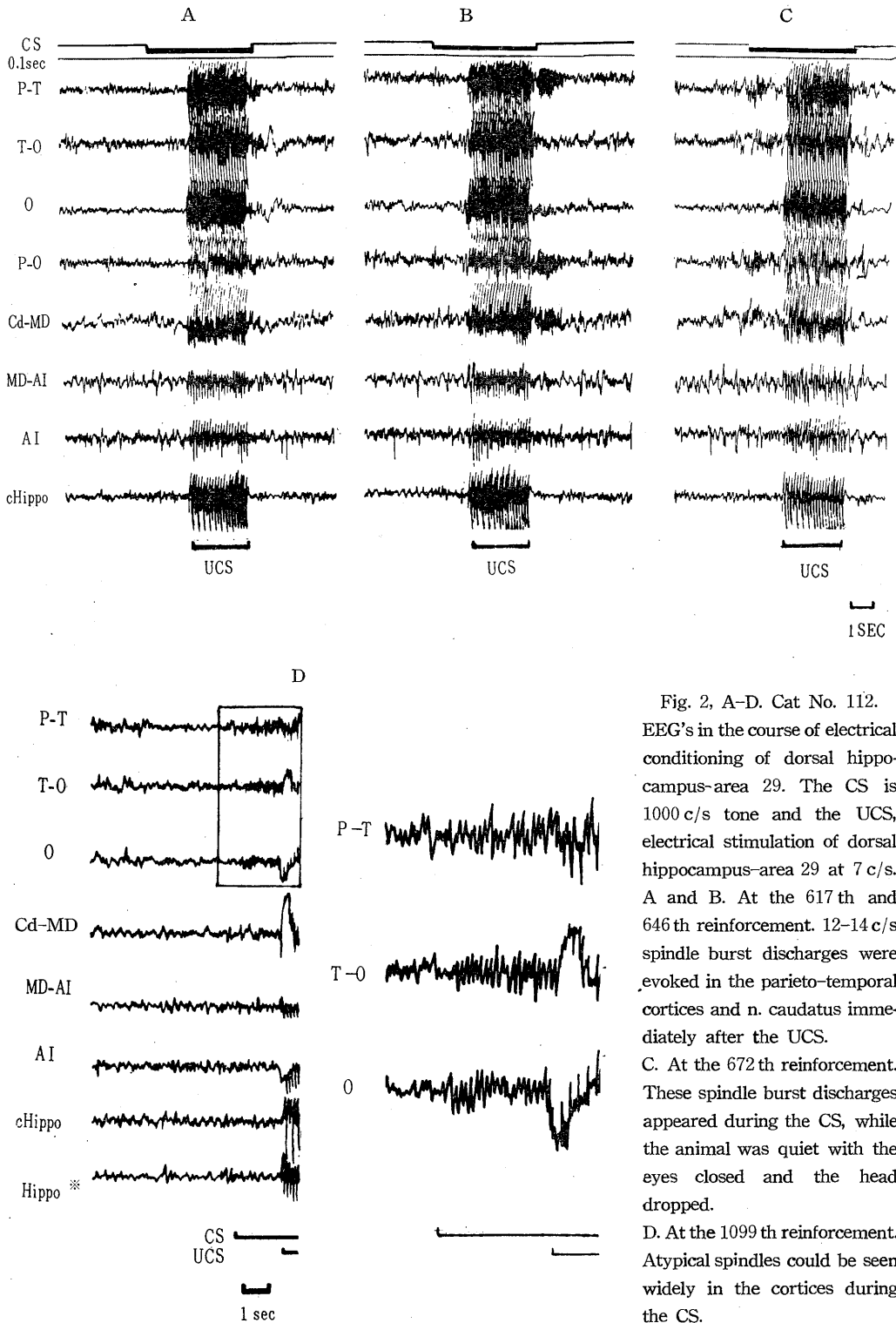


Fig. 2, A-D. Cat No. 112. EEG's in the course of electrical conditioning of dorsal hippocampus-area 29. The CS is 1000 c/s tone and the UCS, electrical stimulation of dorsal hippocampus-area 29 at 7 c/s. A and B. At the 617 th and 646 th reinforcement. 12-14 c/s spindle burst discharges were evoked in the parieto-temporal cortices and n. caudatus immediately after the UCS. C. At the 672 th reinforcement. These spindle burst discharges appeared during the CS, while the animal was quiet with the eyes closed and the head dropped. D. At the 1099 th reinforcement. Atypical spindles could be seen widely in the cortices during the CS.

temporal cortices) に散発的に出現した。

此の動物で注目すべきことに、強化 500 回頃から脊景脳波がしばしば drowsy pattern を示す様になり、後には無条件刺激の直後に after-discharge の形で 12-14 c/s spindle burst が parietal cortex and n. caudatus に誘発された。さらに強化工作を進めると、此の spindle burst は条件刺激中にも見られる様になり、形は稍崩れるが皮質に広く拡がった。此の時、動物は安静で目を閉じ頭を垂れている。これらの脳波及び行動反応は、1200回強化でしばしば条件刺激により誘発されるようになったが、3日間放置することによって完全に自然消去され、その後では条件刺激により hippocampal arousal pattern が現れた (Fig. 2, A-D)。

第3例 Cat No. 115. ♂

条件刺激としては 1500 c/s tone, 無条件刺激は dorsal hippocampus に 6 c/s 電気刺激 (1 msec, 9 V) を与えた。慣れ工作が終了した後、無条件刺激を先行する条件刺激と組合せた。無条件刺激にたいする動員反応は、n. ventralis anterior, formatio reticularis, n. amygdaloideus lateralis 及び contralateral dorsal hippocampus に見られた。

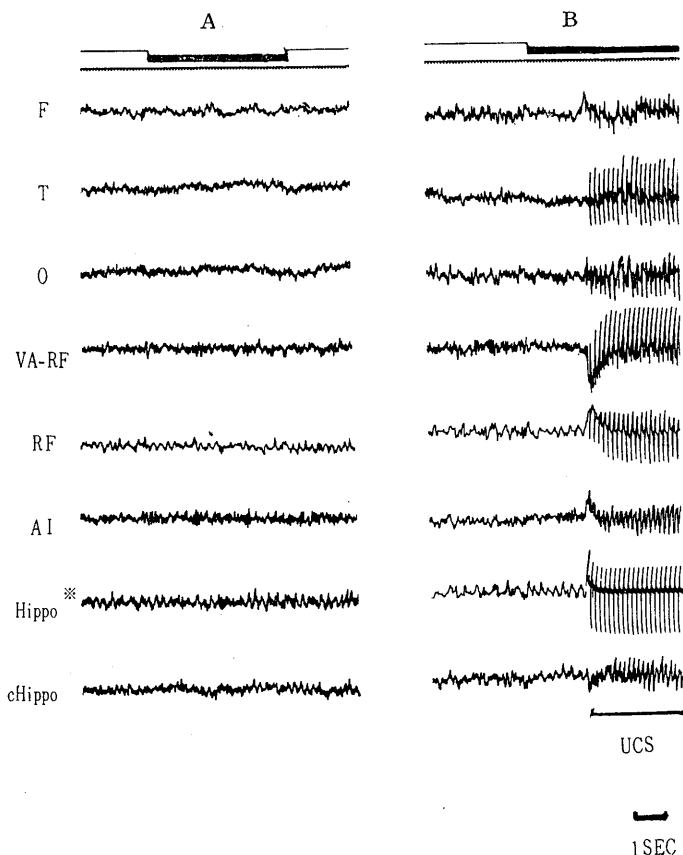
30-40 回強化の後に、条件刺激によって generalized evoked potentials それにつづく hippocampal arousal pattern (約 4 c/s synchronization は formatio reticularis にも拡がる) が起る様になった。条件反射性頻度特異波は、150-200 回強化の頃から frontal, temporal and occipital cortices に散発的に現れた。尚、此の頻度特異波が皮質に現れる時は、皮質下の hippocampal arousal pattern は消えている。

此の動物は強化 300-400 回頃

から、脊景脳波がしばしば drowsy pattern を示すと共に、無条件刺激中に 11-12 c/s spindle burst が frontal cortex に起る様になった。450-500 回強化の後では、条件刺激中にこれらの spindles が frontal cortex, 時に n. ventralis anterior に誘発される様になり、千数百回以後では、脊景脳波が必ずしも drowsy pattern を示さない時にも、条件反射性 spindles の出現が見られた。これらの条件反射性 spindles の出現は 2500 回強化の後でも必ずしも恒常的でなく、条件反射の形成及び消去の criteria を定めることは容易でないが、約 20 回の実験的消去工作によって条件刺激で spindles は誘発されなくなり、arousal pattern が現れた (Fig. 3, A-D)。

第4例 Cat No. 105. ♀

条件刺激は 1000 c/s tone, 無条件刺激は 7 c/s 電気刺激 (0.5 msec, 5 V) を hippocampus-



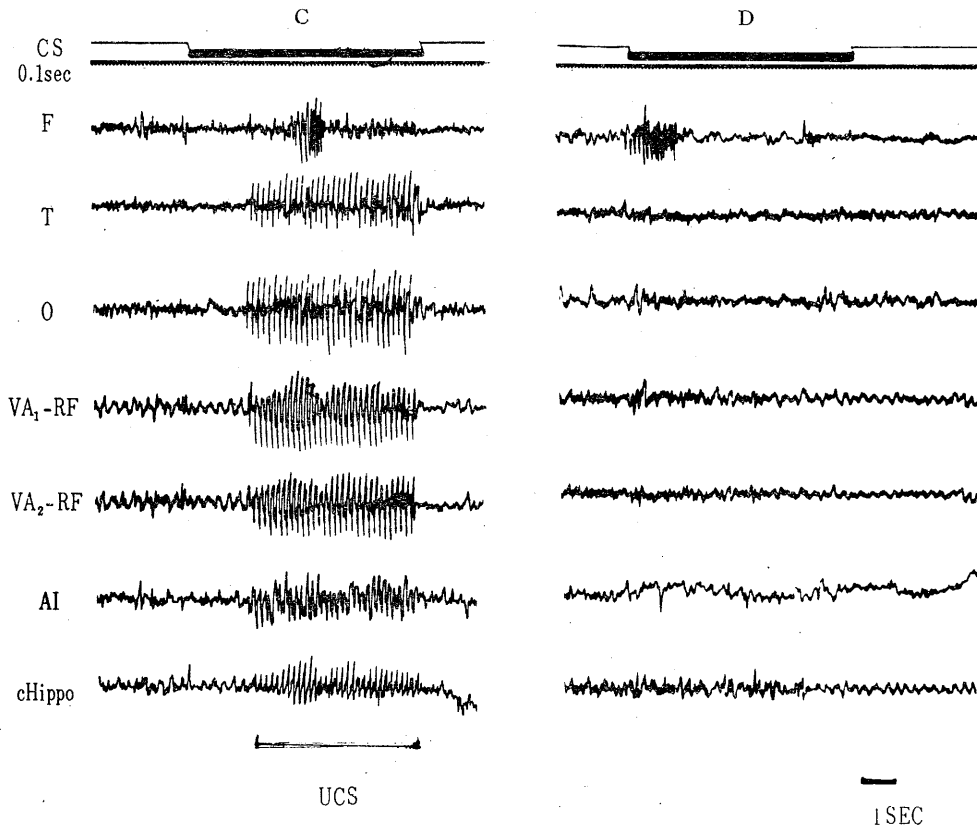


Fig. 3, A-D. Cat No. 115.

EEG's in the course of electrical conditioning of dorsal hippocampus, the CS being 1500 c/s tone and the UCS, 6 c/s electrical stimulation of dorsal hippocampus.

A. Habituation of the tone was almost established.

B. At the 77th reinforcement. The CS caused generalized evoked potentials and the following hippocampal arousal pattern (cortical desynchronization with synchronization in RF and Hippo.).

C. At the 1967th reinforcement. In the frontal cortex, 11-12 c/s spindle burst discharges were evoked during the UCS.

D. At the test after 2033 reinforcements. Such a spindle could be seen in the frontal cortex during the CS.

pyriform cortex にあたえた。hippocampal recruiting response は n. ventralis medialis, n. anterior medialis, formatio reticularis, n. amygdalae, hippocampus 及び frontal and temporal cortices に出現した。

条件反射性頻度特異波はfrontal and temporal cortices に散発的に現れた。強化500回を越える頃から背景脳波が極めて不安定となり、徐波又は睡眠紡錘を示すかと思うと突然速波化してEMGが混入したりする様になった。行動上でも眠り込むかと思うと急に目をさましてうな

たりした (Fig. 4).

第5例 Cat No. 117. ♂

条件刺激は1000 c/s tone, 無条件刺激は7 c/s 電気刺激を dorsal hippocampus に与えた。無条件反応としては, n. caudatus, n. centrum medianum, n. amygdaloideus lateralis に動員反応が現れた。

此の例では, 強化第4日頃(強化160-200回)から, 各実験日ははじめ数回乃至十数回の強化工作で急速に眠り込む様になり, 脳波には睡眠紡錘が頻繁に出現した。これは条件刺激によ

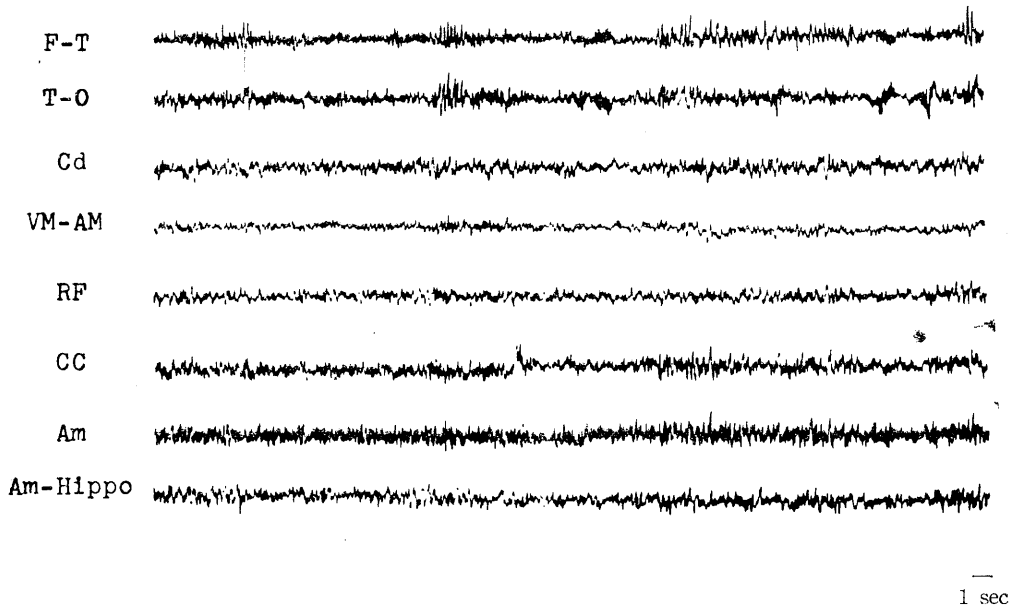


Fig. 4. Cat No. 105.

Background EEG's after 669 reinforcements. Alternation of slow and rapid waves intermingling with EMG's supposed to be the electrographic counterpart of experimental neurosis should be noted.

て影響を受けないが、10-15回の消去工作によって、多くの場合覚醒させることが出来た。

これらの経過中、条件反射性頻度特異波の出現は殆んどなかった。

第6例 Cat No. 109. ♂

条件刺激は1000 c/s tone, 無条件刺激は7 c/s 電気刺激(0.5 msec, 9 V)をhippocampus-pyriform cortexに与えた。hippocampal recruiting responseは、皮質下の全誘導(n. caudatus, n. amygdaloideus basalis, pyriform cortex)に著明であったが、皮質にも広く出現した。

habituation 終了後条件付けを開始すると、条件刺激でgeneralized evoked potentials及びhippocampal arousal patternが起ったが、他の例に比してこれらの反応は稍弱かった。条件反射性頻度特異波は、frontal, temporal and occipital corticesに散発的に出現した。

此の例では興味あることに、強化150-200回頃から条件刺激中にしばしばEMGが脳波記録に混入するのが見られ、運動中枢への興奮の拡

延が推測された。また、強化400回を越える頃から、無条件刺激の直後に13-14 c/s atypical spindle burstがfronto-parietal cortexに現れる様になり、総計1100回の強化によって、此のspindle burstは時に条件刺激中に見られた。

その他、Cat No. 110では、条件刺激中にEMGの混入が見られ、Cat No. 116では、無条件刺激でしばしばgrowlingが誘発され、後には条件刺激中にも起った。

全例の成績を一括して第1表に示す。

以上を要するに、海馬性動員反応の条件付けに際して見られる脳波変化は、

1) 条件付け初期に、条件刺激でgeneralized evoked potentials及びそれに続くhippocampal arousal patternが起る様になる。

2) 条件付け工作を更に進めていくと、無条件刺激の直後にそれと同頻度の脳波がafterdischargeの形で誘発され、次いで条件刺激中にも出現する様になる(主として皮質)。皮質に条

Table 1.

| Animal | CS | UCS | UCR (EEG) | CR (EEG) | Behavior |
|---------|---------------|--|---|--|---------------|
| Cat 105 | 1000 c/s tone | 7 c/s 0.5 msec (Hippo-pyr. C) 5 V | recruit. response F, T, VM-AM, RF, Am, Hippo.) | 7 c/s waves (F, O, Am, Hippo); altern. of slow & rapid waves | sleep or rage |
| Cat 108 | light off | 7 c/s 0.5 msec (Hippo) 5 V | recruit. response P, O, Cd, RF, Am) | 7 c/s waves (O) | |
| Cat 109 | 1000 c/s tone | 7 c/s 0.5 msec (Hippo-pyr. C) 9-10 V | recruit. response (P, T, Cd, Ab, pyr. C) | Hippo. arousal; 7 c/s waves (F, T, O); EMG spind. burst (F) | sleep or rage |
| Cat 110 | 1000 c/s tone | 7 c/s 0.5 msec (Hippo-pyr. C) 6 V | recruit. response (P, T, O, RF, Hippo) | Hippo. arousal; EMG | |
| Cat 112 | 1000 c/s tone | 7 c/s 0.5 msec (Hippo-area 29) 12 V | recruit. response (P, T, MD, Al, Hippo-area 29) | Hippo. arousal; 7 c/s waves (P, T); spind. burst (P, T, O, Cd) | sleep or rage |
| Cat 115 | 1500 c/s tone | 6 c/s & 9 c/s 1 msec (Hippo) 9 V | recruit. response (VA, RF, Al, Hippo) | Hippo. arousal; 6 c/s waves (F, T, O); spindle burst (F, VA) | sleep or rage |
| Cat 116 | 1500 c/s tone | 6 c/s 1 msec (Hippo) 8 V | recruit. response (P, T, O, RF, Al-Put) | Hippo. arousal | growling |
| Cat 117 | 1000 c/s tone | 7 c/s 0.1 msec (Hippo) 6 V | recruit. response (T, Cd, CM, Al) | Hippo. arousal; spindle burst | sleep |
| Dog 201 | 500 c/s tone | 7 c/s 1 msec (Hippo) 5 V | recruit. response (T, CC, CinC, area 29) | Hippo. arousal; 7 c/s waves (F) | |
| Dog 202 | 1000 c/s tone | 7 c/s 1 msec (Hippo-pyr. C) 8 V | recruit. response (F, T, Cd, MD, area 29) | Hippo. arousal; 7 c/s waves (F, P, T, O, area 29) | |
| Dog 203 | 1500 c/s tone | 8 c/s 1 msec (Hippo) 5 V | recruit. response (T, CM, RF, Hippo) | Hippo. arousal; 8 c/s waves (F, T, O, Cd) | |

件反射性頻度特異波が現れるときは、hippocampus 及び皮質下諸構造の 4-5 c/s synchronization は不明瞭となる。

3) 条件反射性頻度特異波の出現は、閃光性及び視床電気刺激によるものに比して不安定であるが、一旦条件付くと消去に数百回の消去工作を必要とする。

4) 消去に際して、頻度特異波が一時的に皮質に広く出現することがある。

5) これらの経過中に 11-14 c/s spindle burst が、はじめ無条件刺激中又はその直後に誘発される様になり、次いで条件刺激中にも出現する。

6) これらの動物は、しばしば、背景脳波の不安定(速波と徐波の急速な交代)、筋電図の混入(運動中枢への拡張)、行動異常(うなっているかと思うと眠り込む)等を示し、実験的神経症を思わせた。

IV. 考 察

1) 海馬性動員反応について

海馬を数サイクル~十数サイクルで電気刺激することによって、皮質下に広く(n. caudatus, medial thalamus, formatoreticularis amygdalae pyriform cortex, cingulate gyrus, corpus callosum, contralateral dorsal hippocampus), 時に皮質(frontal, parietal, temporal and occipital cortices)にも出現する動員反応を得ることが出来た。ここで得られた動員反応は、視床内側核刺激によるもの⁷⁾に比して不安定であり、同じ条件の刺激に対して反応態度の異なることもある。waxing and waningを示すことも多いが、waxingのみでplateauに達することもあり、刺激を続けると発作放電に発展した。このことは扁桃核刺激の場合⁸⁾と類似しているが、それより更に不安定である。これらは

海馬の特異な被刺激性によるものであろう。

2. 条件付け初期の脳波変化について

条件付け初期に条件刺激で *generalized evoked potentials* 及びそれに続く *hippocampal arousal pattern* が起る様になったが、これは古典的条件反射(唾液⁹⁾, 防禦¹⁰⁾, および頻度特異脳波条件付け(*flicker*によるもの, 視床電気刺激によるもの)の場合と全く同様であり, *reticular system* 及び *limbic system* の関与が推測される。

3) 条件反射性頻度特異波について

条件反射性頻度特異波の出現は、新皮質に多く(特に *fronto-parietal*), その際 *hippocampus* 及び皮質下諸構造の 4-5 c/s *synchronization* は不明瞭となる。これらの所見は, *flicker* 又は視床電気刺激による条件付けの場合と類似しており, はじめ条件付けられた *hippocampal arousal pattern* が、後に抑えられて皮質に頻度特異波を出現させると考えられる。しかし乍ら、海馬刺激による条件反射性頻度特異波の出現は数例を除いてはむしろ散発的であり、不安定であった。これは海馬性動員反応の不安定性および新皮質と直接線維連絡がないこと、等によるものと思われる。

4) Spindle burst について

此の実験の経過中に見られた *spindle burst* は、その周波数が 11-12 c/s 又は 12-14 c/s であること、出現部位が多くは *fronto-parietal cortex*, *n. caudatus*, *n. ventralis anterior* 等であること、及びその際の行動変化(安静で、頭を垂れ、目をとじる)からして、*sleep spindle* に類するものと考えられる。Lissák et al.¹¹⁾ は、海馬電気刺激が睡眠を妨げないことを見ており、Andy et al.¹²⁾ は、*hippocampal seizure* 中に皮質に *sleep spindle* が現れた例を報告している。また Kaada and Jasper¹³⁾ は、人間で *hippocampal and limbic gyri* を電気刺激することによって、*sleep-like response* が起ることをみとめており、Green and Adey¹⁴⁾ も、海馬が睡眠に一定の役割を果たす事を暗示している。著者の成績は、海馬が睡眠に重要な関係をもつ

ことの積極的な証明である。しかしそのメカニズム等については不明の点が多く、睡眠、覚醒に深い関係をもつ他の皮質下諸構造(特に視床、視床下部¹⁵⁾ 中脳網様体¹⁶⁾)との機能的関連については、今後の研究にまたねばならない。

5) 実験的神経症について

本実験の経過中に、多数例の動物に見られた。興奮と制止の平衡失調を思わせる脊景脳波の不安定性(速波と徐波・紡錘波の急速な交代)、条件刺激中に興奮が運動中枢に拡がったことを暗示する EMG の混入、うなっているかと思うと急に眠り込む様な行動異常、等は何れも実験的神経症を想像させる症状であり、別に述べる発作放電条件付けの際の行動異常¹⁷⁾と共に興味ある変化である。これらの変化は、辺縁系の情動面における役割りに関連していると考えられる。

V. 結 論

1. 無麻酔、半拘束の犬及び猫を用い、海馬及びその隣接諸構造を低頻度で電気刺激して得られる *hippocampal recruiting response* を先行する音又は光刺激と組合せた。

2. 条件付け初期に、条件刺激で *generalized evoked potentials* 及びそれに続く *hippocampal arousal pattern* が現れる。

3. 条件付けをさらに進めていくと、条件刺激中に頻度特異波が現れるようになり、その時 *hippocampal arousal pattern* は不明瞭となる。

4. これらの経過中に *sleep spindle* が無条件刺激中又はその直後に誘発される様になり、後には条件刺激中にも出現する。

5. 条件付けられた *sleep spindle* は、実験的消去によって消失し、*hippocampal arousal pattern* が出現する様になる。

6. 実験的神経症を思わせる諸症候について考察した。

(本論文の要旨は、第9回日本脳波学会、及び第37回日本生理学会総会に於て発表した。また研究費の一部は、文部省科学研究費辺縁系研究班の援助を受けた。)

稿を終るに臨み、終始懇切な御指導を賜った吉井教

授, 御援助を惜しまれなかった第2生理及び第3解剖教室員諸氏に心から感謝します。

文 献

- 1) Morrell, F. and H. Jasper (1956) Electrographic studies of the formation of temporary connections in the brain. *EEG Clin. Neurophysiol.* **8**, 201
- 2) Yoshii, N., P. Pruvot et H. Gastaut (1956) A propos d'une activité rythmique transitoirement enregistrée dans la formation réticulée mésencéphalique et susceptible de représenter l'expression électroencephalographique de la trace mnémonique *Compt. r. Acad. Sci. Paris.* **242**, 1361
- 3) Yoshii, N., P. Pruvot and H. Gastaut (1957) Electroencephalographic activity of the mesencephalic reticular formation during conditioning in the cat. *EEG Clin. Neurophysiol.* **9**, 595
- 4) Yoshii, N. and W. J. Hockaday (1958) Conditioning of frequency characteristic repetitive EEG response with intermittent photic stimulation. *EEG Clin. Neurophysiol.* **10**, 487
- 5) Yoshii, N., J. Matsumoto, H. Ogura, M. Shimokôchi, Y. Yamaguchi and H. Yamazaki (1960) Conditioned reflex and electroencephalography. *EEG Clin. Neurophysiol. Supp.* **13**, 199
- 6) Yoshii, N., M. Shimokôchi and Y. Yamaguchi (1960) Conditioning of frequency characteristic repetitive response with electrical stimulation of some thalamic structures. *Med. J. Osaka Univ.* **10**, 375
- 7) Morison, R. S. and E. W. Dempsey (1942) A study of thalamo-cortical relations. *Am. J. Physiol.* **135**, 281
- 8) Gloor, P. (1956) Electrophysiological studies on the connections of the amygdaloid nucleus in the cat. Part II *EEG Clin. Neurophysiol.* **7**, 243
- 9) Yoshii, N. and S. Maeno (1958) An electroencephalographic study of conditioned salivary reflex. *Folia Psychiat. Neurol. Japon.* **12**, 296
- 10) Yoshii, N., Y. Hasegawa and H. Yamazaki (1959) Electroencephalographic study of defensive conditioned reflex in dog. *Folia Psychiat. Neurol. Japon.* **13**, 320
- 11) Lissák, K., E. Grastyán, A. Czanaky, F. Kékesi and G. Verby (1957) A study of hippocampal function in the waking and sleeping animal with chronically implanted electrodes. *Acta Physiol. Pharmacol. Neurol. Neerlandica.* **6**, 431
- 12) Andy, O. J. and R. McC. Chinn (1957) Cingulate gyrus seizures. *Neurology.* **7**, 56
- 13) Kaada, B. R. and H. Jasper (1952) Respiratory responses to stimulation of temporal pole, insula and hippocampal and limbic gyri in man. *Arch. Neurol. Psychiat.* **68**, 245
- 14) Green, J. D. and W. R. Adey (1956) Electrophysiological studies of hippocampal connections and excitability. *EEG Clin. Neurophysiol.* **8**, 245
- 15) 伴 忠康・篠田博之・湯浅亮一・女川昭雄 (1958) 視床下部刺激を無条件刺激とする条件反射について *日本臨床* **16**, 29
- 16) Favale, E., C. Loeb, G. F. Rossi and G. Sacco (1961) EEG synchronization and behavioral signs of sleep following low frequency stimulation of the brain stem. *Arch. itali Biol.* **99**, 1
- 17) Yoshii, N. and Y. Yamaguchi (1962) Conditioning of seizure discharges with electrical stimulation of limbic structures. To be published.
- 18) Yoshii, N. and Y. Yamaguchi (1960) Conditioning of spindle burst discharges induced by electrical stimulation of dorsal hippocampus in cat and dog. *Neurologica, medico-chirurgica.* **2**, 56

Abbreviations

- Ab : n. amygdaloideus basalis.
 AM : n. anterior medialis.
 Am : n. amygdalae.
 Al : n. amygdaloideus lateralis.
 CC : corpus callosum.
 cHippo : contralateral hippocampus.
 CinC : cingulate cortex.
 CM : N. centrum medianum.
 F : frontal cortex.
 Hippo : hippocampus.
 MD : n. medialis dorsalis.
 O : occipital cortex.
 P : parietal cortex.
 Put : putamen.
 PyrC : pyriform cortex.
 RF : formatio reticularis.
 T : temporal cortex.
 VA : n. ventralis anterior.
 VM : n. ventralis medialis.

When two electrodes are in the same structure, numbering is made to every one of them.

* Site of stimulation.

地方小学会報

第140回生理学東京談話会

時 昭和36年1月28日(土) 午後1時より

所と当番 東京医科大学病院中央病棟講義室 久保盛徳

主題:「興奮性原形質膜」として当番幹事が次の諸氏にお願いしてお話をきく事にいたしました。

1. 浜 清 (広島大解剖)

Segmented giant fiber の微細構造を中心として

みみず及びざりがにの Segmental Septum 及びざりがにの giant-to-motor giant synapse の微細構造を検索し次の様な所見を得た。

A.

1) みみずの巨大神経線維は脊椎動物の有髄線維と同様 Schwann 細胞胞体内に Spiral の膜構造を示す髓鞘を有している。

2) Segmental septum は巨大神経線維を斜に横切る完全な隔壁で巨大線維はこの部で各体節毎に完全に分離される。

3) Septum は相接する2個の giant axons の plasma membranes のみからなる2重膜構造を示し膜間の間隔は約100 Åである。従来考えられていた様な髓鞘構造を有しない。

4) Septum の一部には其の両面に非常に規則正しい vesicles の配列を見る。

5) Synaptic process は存在しない。

B.

1) ざりがにの巨大神経線維は一層の Schwann 細胞鞘と其の外側に結合組織線維層と扁平な細胞層が交互に重なる重層構造の鞘を有する。

2) 隣接する体節の巨大線維は相接して、Segmental septum を造るが、此の Septum は上記のすべての鞘要素を有している。

3) Septum 上には、鞘構造を欠き、相接する axons の plasma membranes のみからなる小区域が散在している。相対する Axon membranes 間の間隔は約100 Åである。この部の両 axons 内には plasma membrane の直下に多数の vesicles が対称的に密集している。

C.

1) 運動性巨大神経の小突起 Synaptic process は内側或は外側巨大神経の鞘をやぶって進入し、

巨大神経軸索と直接相接して、giant-to-motor giant synapse をつくる。

2) この部に於ては両巨大神経をつつむ Schwann 細胞を含むすべての鞘構造が失消し、各 Axon membrane は100 Åの間隔をへだてて相対する。

3) Synapse に付随する Vesicles 及び Tubular component の分布は不定であり、此の Synapse の方向性に対応する局在を示さない。

D.

1) 此等の電気的 Synapses に共通に見られる事は他の化学的 Synapse に比し Synaptic cleft のはばが小さい事、Synaptic membrane が Synapse の部に特有の分化をしめさない事および Synaptic vesicles の分布に方向性が認められないことである。

2) Chemical synapse に於ける所謂 Synaptic complex と Desmosome の形態及び機能の類似から Synaptic complex を Synapse + Desmosome であろうと推論した。

2. 塚田裕三 (東邦大第2生理)

神経細胞膜での物質輸送機構

大脳皮質切片をアミノ酸 (5 mM) を含む含ブドウ糖 Ringer 中で好氣的に incubate すると、アミノ酸はその濃度勾配に逆って細胞内に蓄積する。この現象はグルタミン酸、アスパラギン酸、γ-アミノ酪酸の如く脳内に多量に遊離の形で存在するアミノ酸について特に旺盛に認められ、神経細胞での特質である。アミノ酸の能動輸送の実験には中性のアミノ酸である GABA と酸性アミノ酸であるグルタミン酸、更に脳組織で代謝されないD-グルタミン酸を用いた。GABA の取り込みの際には細胞内の Na, K イオン共に変化せず軽度の細胞膨化が見られるのみであるが、グルタミン酸の場合には細胞内にグルタミン酸と等モルの K⁺ の

蓄積を伴い、細胞膨化も又顕著である。これらアミノ酸の能動輸送は 0°C、代謝阻害剤の添加によって強く抑制されるが、又 Ringer 中の K^+ を除く時にもアミノ酸の輸送は強度に抑制され能動輸送には K^+ が必須である。そこで、これらアミノ酸輸送の担体を求める目的で、細胞膜の構成成分と考えられる Cytoplasmic Particulates を冷庶糖液中で 10,200 g で集め、それより磷脂質を抽出し P^{32} のとり込みを検討してみると、GABA の蓄積の起る条件で磷脂質中の phosphatidic acid, phosphatidyl choline への P^{32} のとり込みが増加することが認められた。併しこの様な現象は GABA の蓄積の認められない腎切片では起らないのである。一方グルタミン酸の蓄積に際してはこの様な現象が認められず、GABA とグルタミン酸では能動輸送の担体が異なることが考えられた。そこで各種アミノ酸につき能動輸送の競合阻害を検討してみると、GABA と β -アラニン、グルタミン酸とアスパラギンの如く構造類似のアミノ酸の間では競合阻害が認められるが、GABA とグルタミン酸の間には全く競合は認められなかった。次にアミノ酸の構造と蓄積との関係を各種の Analogue を用いて調べてみると、 ω 位のアミノ基をアセチル化したり、カルボン酸をエステル化したものでは蓄積がみられず、又 α -アミノ酪酸も GABA に比べて、その蓄積は軽度低下するのであってアミノ基とカルボキシル基がアミノ酸分子の両端に遊離の形で存在する事が蓄積の必須条件であった。

この様に神経細胞膜でのみ認められるアミノ酸の能動輸送系を介して神経細胞膜の機能生化学的研究を行いつつある。

3. 渡辺 昭 (東京医歯大生理)

電氣的シナプスと、ニューロン間の電氣的連絡

電気生理学の分野に於ける最近の発展の1つとして、電氣的なニューロン間の伝達及び干渉の概念の復活が挙げられる。この中に含まれるものの中には、次の様な型が存在する。

1) 両方向性伝達の電気シナプス、例：ザリガニ外側巨大神経線維の隔膜 (Septum)。

2) 1方向性伝達の電気シナプス、例：ザリガニの外側巨大神経線維と運動神経線維との間のシナプス。

3) 電氣的抑制シナプス、例：Mauthner's cell の Early late response に伴って起る抑制のためのシナプス。

4) 電氣的連絡、：例エビの心臓神経節の細胞、及びフグの延髄上細胞の間に存在する電氣的相互作用のための道。

1) 2) の様な、ニューロン間の電氣的接合部は、時に Ephapse の名で呼ばれるが、Arvanitaki の Ephapse 又は Eccles の電気シナプス仮説の中の興奮性シナプスとは著しく異なる。その差異の主なもの、1) 局所電流の方向。Ephapse ではシナプス膜を横切って Post より Pre へ流れるが実在の電気シナプスでは Pre より Post へ流れる。2) 安全率。Ephapse では低く伝達を起すために特殊の操作があるが実在の電気シナプスでは高い。3) シナプス電位の時間的変化。Ephapse では二相性、実在電気シナプスでは一相性。4) シナプス電位のシナプス後細胞膜にそっての拡がり。Ephapse ではシナプス直下以外に過分極が起るが、実在電気シナプスではどこでも脱分極である。5) シナプス膜の興奮性。Ephapse では一般のニューロンの膜と同じく興奮性を持つとする。実在の電気シナプスでは、この膜に興奮性はない。

4. 坂本嶋嶺 (順天堂大第1生理)

興奮性原形質膜における電気現象の直接的観察
本講演は第37回日本生理学会総会における講演の継続である。同総会予稿集47頁の図1および図2を参照されたい。図2Aの時尺は消えているが、図2Bの時尺の1/3.2の時尺が附いていると見做して下さい。

さて興奮性原形質膜に近接する部位における電流性分極、局所応答 (演者は古くから刺激過程と名づけている)、および spike 電位を正確に観察するために、刺激電流として非常に短い期間 (20-25 μ sec) の直流搏動および刺激電極並びに誘導電極として演者が考案した細孔電極 (興奮性組織の電気刺激、自動能の研究、文光堂、東京、1959) を使用することによってその目的を果すことが出来る。すなわち演者等は、このような刺激電流および電極を用いて I) 蛙骨格筋線維の絞輪部の興奮性曲線および II) 闕下並びに III) 闕上刺激の場合の電位曲線の oscillogram を定め前記総会にお

いて大略を報告したが、次にそれらの興奮性または電位変動を分析した結果について述べる。

I) の場合には条件刺激および試験刺激の期間は約 25 μ sec 興奮性曲線は、1) 電流性分極の減弱する経過に相当する曲線、2) 条件刺激の期間内に初まる、単相性 spike 電位に類似した形の刺激過程曲線、3) 条件刺激が終わった後に初まる、

1) と同様な形だがより小さい、方向が反対の刺激打消し反作用曲線よりなる。II) および III) の場合には、1) は oscillogram 上に電流性分極が減弱する曲線そのものとして現われ、2), 3) は I) の場合と同様な曲線であるが、さらに、4) 刺激電流が開放されたとき刺激電流そのものによる電位が時間零以内に消えるべきであるが装置が不備なために現われる oscillogram 上の非常に淡い下降直線、及び、III) の場合には、5) 小さい spike 電位が見られる。

5. 高橋日出彦 (東京医大第1生理)

神経細胞膜の興奮機構に対する物質の作用様式に就いて

6. 江橋節郎 (東大薬理)

筋収縮機構における弛緩因子の役割

アクトミオシンとATPの反応は、非可逆的の要素を多分に含んでいる。これを動的な可逆系とするものが、「弛緩因子」(Marsh 因子)である。

1955年¹⁾、我々によって、弛緩因子の本態が、約 18,000 g で遠沈される強い ATP ase をもった顆粒分割にあることが明らかにされて以来、多くの研究者が、その作用機構を追求して来た。その多くは、この顆粒因子から、小分子の溶性物質が

遊離し、直接アクトミオシンに達することを想定しているが、我々は、次の事実に基づき、弛緩因子は、アクトミオシンから Ca を奪うことによって弛緩をもたらすものであるとの結論に達した²⁾。

1) アクトミオシンの収縮に微量の Ca が本質的に必要である。

2) EDTA などのキレート剤の弛緩作用はアクトミオシンから Ca を奪うことによる。

3) 顆粒性弛緩因子は、ATP の存在下に、Ca を強く結合する。その強さは EDTA よりも強力である。

弛緩因子が胞状構造を示し、小胞体そのもの又はその一部と考えられるが、このことと、A. F. Huxley³⁾の所説とを総合すれば、その様な筋収縮弛緩の機構で想定される。

筋静止時、Ca は、小胞体と結合している(小胞体の膜を超えて内部に貯えられるのか、膜表面に結合しているのかまだ明らかでないが)、興奮に伴う脱分極は、Huxley によれば小胞体の管状構造を通して内部に伝播するが、これにより小胞体に結合した Ca が遊離し、アクトミオシンの収縮を来す。弛緩は、Ca が小胞体に再結合することによってもたらされる。——この仮説には、証明すべきことが多く残されているが、「弛緩因子」という生化学的レベルで出発した問題が、「興奮収縮連関」という生理的課題に関係づけられるとすれば、興味ある問題である。

1) Kumagai, H., Ebashi, S., and Takeda, F., (1955) *Nature*, **176**, 166

2) Ebashi, S., (1960) *J. Biochem.*, **48**, 150

3) Huxley, A. F., and Taylor, R. E., (1958) *J. Physiol.* **144**, 426

第 141 回生理学東京談話会

時 昭和36年2月18日午後1時より

所と当番 日本医科大学講堂 戸塚武彦・高橋 恵

1. 横井泰生 (東大薬理)・桑村 司・武藤幸子 (国立衛生試験所)

ウサギ固定による体温変動への情動の関与とこれに対する環境温度の影響

動物を背位などに固定すると体温が下降することは、多くの実験者が経験している事柄である。その原因としては、体表面積の増大にもとづく放熱の増加とか、運動の拘束にもとづく産熱の減少

なども当然考えられる。しかし Grant (1960) の報告以後、Bartlett et al. (1953-58) その他の人々が論じている情動性体温下降 emotional hypothermia の問題がある。他方、早谷川ら (1953, 54) は圧迫反射という面から検討している。

体温に対する固定の影響を情動性反応として理解するためには、心理的以外の可能性ある原因をできるだけ排除した実験が望ましい。そこで1つ

の固定器から他の固定器にウサギを移しかえるという方法をとった。そして移動中も中断することなく連続的に直腸温と耳温とを記録することにした。用いた固定器は新法（横井ら、1958）と首枷式である。

1) 同一型の2箇の固定器の間でウサギを移しかえても、直腸温の変動はないも同然である。このとき固定器の種類が別であれば、1°C内外の体温変動は起し得る。またこの効果は2通りの移動方向にはかかわりない。故に、このように惹起した体温変動は情動性と見做し得る。実験には毎回新しいウサギを使用した。しかし他のウサギでの実験を数回観察しただけで、実際の場合の体温変動が起き難くなるらしいことはこのような解釈に有利である。

2) 体温変動と環境温度とは1%の危険率で有意の相関関係が存在し、環境温度が低いとき惹起せられる体温変動は一般に下降であり、環境温度が高いときには一般に体温上昇が見られる。その臨界気温は25°C附近となる。情動性体温下降のほかにも新たに情動性体温上昇を考えるべきであろう。

3) 附随して起る耳温変化の方向は直腸温変動の方向とは全く無関係である。従って体温低下の原因を血管拡張に求めた多数者の見解とは反する成績を得た。

4) 小数例で E. M. G. をとったが、直腸温の変化はむしろ骨格筋活動の変化に結びつけることができよう。

2. 小原昭作 (新潟大第1生理)

自動搏動時に於けるガマ・リンパ心臓の活動電位とメカノグラム

ガマの後リンパ心臓 (LH) より細胞外誘導によって、その活動電位の single unit activity を記録した。一搏動につき、単一の局所電位が3-5コ平均約60 msecの間隔で summate して現われ、この単一の component は第11前根の刺激に対して all-or-none に応ずる。又この電位の波形は先に報告した細胞内電極法による記録とも大体一致して居り、s. j. p. に類似する。従って自動搏動時の LH の unit activity は数コの s. j. p. が summate して構成されていると考える。

第11前根のレベルで LH 支配神経の伝導速度を

測定し、6.6-11.4 m/sを得た。これは田崎、Kuffler 等の small nerve の伝導速度よりやや大きく、彼等の small-and large-nerve の境界の値と思われる。

LH について、その活動電位とメカノグラムの同時誘導を試み、先に落合の報告した所謂 "intracellular potential" に似たメカノグラムを得た。このメカノグラムは活動電位より約70 msec遅れて始り、略々ドーム状の経過をとる。その上昇期 (収縮期) は下降期と等しいか、又はやや長い。又その全経過は持続時間にして、その振巾の10%及び50%のレベルで夫々、約470 msec及び300 msecである。

この LH を構成する筋組織と、骨格筋の slow muscle system とを比較考察した。

3. 野村浩道 (東京教育大理動物)

タツナミガイ心臓の摘出単一筋束の自動的搏動に伴う電気的变化

軟体動物の心臓の自動能については、一般にその歩調とり部は特別な細胞による局在的なものでなくて、全部の心筋線維に自発的活動性が備わっていると考えられている。この場合、歩調とりを決定する要因が何であるかが問題となる。これに関して、心筋に及ぼす張力即ち心筋の伸張が歩調とりを決定する要因であるとの考えがある。そこで、タツナミガイの心室内壁から摘出した単一筋束標本を材料としてこの問題の研究を行なった。

この実験では、微小電極による細胞内誘導の活動電位を記録し、弛緩時に現われる Slow depolarization の存在を確かめ、次いで、この Slow depolarization の勾配が心筋の伸張によってどのように変化するかを調べた。測定は体液中で室温 (23-27°C) で行なった。

静止電位の平均は 64.8 mV (88標本 227細胞について)、活動電位の平均は 40.3 mV (29標本 57細胞について) であった。活動電位の波形は Slow depolarization 及び Plateau 相を伴ったもので、哺乳動物の心臓の歩調とり細胞から得た波形に類似しているが、Overshoot を示さぬ点、立ち上りの最大勾配の値 (1-3 V/sec) の低い点などは甚だ相異している。

静止電位及び活動電位の大きさは伸張によって殆んど変化しなかったが、一方、活動電位の波形

は伸張によって変化した。Plateau の肩が張り、再分極相の勾配が減少し、Slow depolarization の勾配が増してきた。

Slow depolarization の勾配の増加を自発的活動性の増加とみることは一般に承認されているので (Weidman, Arvanitaki, Bozler), 以上の結果は、心筋の伸張が歩調りを決定する要因であるという考えを支持しているように思われる。

4. 本間三郎・高野光司 (千葉大第1生理)

錘内筋収縮について

猫に Flaxedil を静注すると α -運動終板を遮断はするが γ -活動は残っている状態をつくることができる。従来筋の収縮に際しては環ラセン終末からの筋紡錘発射は休止することが見られて来たが、Flaxedil 投与による α -終板遮断の結果錘外筋が収縮しなくなるので前根を刺激すると γ -線維の興奮のみが伝達した結果の錘内筋の収縮により刺激後に筋紡錘発射の出現又は増加をみる。一方、筋を伸張すると伸張の大きさに比例して筋紡錘発射頻度が増大するが、その増加率は Flaxedil を与えても変化しない。

筋紡錘は錘外筋に平行に走って附着しているので錘外筋の長さの変化と錘内筋の長さの変化の比は夫々の筋長の比を等しいとみなし得る。したがって γ -線維刺激による錘内筋収縮による筋紡錘発射頻度から、錘内筋の収縮の大きさを計算し、理論的に錘内筋の収縮曲線を描いた。前根単一刺激による錘内筋収縮曲線より、この収縮期間は一般の横紋筋のそれに比し非常に長く約1秒であり、収縮の大きさは約 40μ である。この事から錘内筋は非常に緊張的な筋線維からなることがわかる。通常状態に於ける収縮後に現われる筋紡錘発射の一時的増大は錘外筋が収縮終了後に錘内筋収縮がピークに達するために生ずるものであるという事も錘外筋収縮曲線と錘内筋収縮曲線の比較から知られた。

5. 二木宏明 (東大脳研生理・心理)

海馬損傷のネズミの行動に及ぼす効果

本研究の目的は海馬がいかなる行動に関与して

いるかを明らかにすることなのである。シロネズミを用いて海馬を破壊し、回避反応、明暗弁別、縦縞-横縞弁別、迷路学習におよぼす効果を調べた。

吸取法により実験群には海馬+新皮質、統制群には新皮質のみに両側性損傷を与え、10日間の回復期を経てテストをした。テストの方法は、1) 海馬を破壊した後に前述のごとき課題の訓練を行ない、いかなる課題の学習が阻害されるかを調べる。2) 損傷を与える前にあらかじめ或る課題を学習させておき、損傷後に再学習させ把持テストを行なう。

回避反応——床がグリッドの箱でブザーによる電撃の回避訓練を行なう。学習、消去、把持テスト全て1日20試行、3日間、計60試行。

明暗弁別・縞縞弁別——Y型の木製箱での餌による訓練、1日10試行、連続2日間無錯誤になる迄続ける。

迷路学習——袋路が8つある迷路を用い、餌による訓練、1日5試行、連続2日間無錯誤になる迄訓練を続ける。

結果 1) 回避反応の学習、消去及び把持には海馬損傷は殆んど効果がなかった。

2) 明暗弁別の学習及び把持は海馬損傷によって著しく阻害された。

3) 縦縞-横縞弁別についてもその学習及び把持の阻害が認められた。

4) 迷路学習に関しても海馬損傷により著しい学習及び把持障害が起った。

5) 一側性の海馬損傷によっては全然効果が認められなかった。

以上の如く、両側性海馬損傷は「恐れ」と云う情動が主要な役割を演じていると考えられる回避反応には殆んど効果がないが、弁別及び迷路学習等の認知的反応の学習及び把持を阻害するとの結果が得られた訳である。

特別講演

6. 平尾武久 (群馬大第2生理)

イタリアの話

第13回日本生理学会中国・四国部会(1)

時 昭和36年8月22日午前9時より

所と当番 徳島大学学生会館 岡 芳包・山野俊雄

1. 山野俊雄・三宅可浩・安芸謙嗣・橋本澄子(徳島大第2生理)

D-アミノ酸化酵素に対する尿素の作用について

われわれはすでに D-アミノ酸化酵素の配合群 Flavin adenine dinucleotide (FAD) が酵素たんばくに結合した場合の相互作用について報告してきた。最近このような相互作用の結果たんばく側でも何らかの構造上の変化が起っていないかということに着目して研究を進めている。さきにトリプシンによる本酵素の被分解性をしらべ本酵素の酸化還元にもなうたんばく部分の変化を報告したが、今回は本酵素に対する尿素の作用をしらべた。酵素活性と吸収スペクトルからたんばく水解酵素の場合とは逆に酸化型は尿素変性を受け易いが還元型は強い抵抗を示すことがわかった。われわれの成績は酵素の酸化還元状態に対応してたんばく側に構造上の変化が存在し得るという概念に対してはこれを支持する結果になった。

また本酵素に対する尿素の作用にも可逆性の不活性化と不可逆性の不活性化との過程が存在することが確かめられた。

さらに酵素に対する尿素の作用という観点から kinetics を試み尿素は本酵素の基質であるアラニンと拮抗性阻害を示すことが明らかとなりその阻害定数は 1.8 M であった。また FAD とは非拮抗性阻害を示すことがわかった。

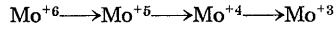
2. 久保秀雄・志賀 健(阪大医第1生理)

電子スピン共鳴法の生理学への応用例

D-アミノ酸化酵素は一電子移動により酸化還元に参加すると反応速度から推定されている。一電子移動とすればセミキノン型を経由しなければならぬ。この中間体存否の証明を EPR 法によって行ない得る。

フラビン類は一樣に32本の超微細構造を示す。ただし9位の糖置換体はその構造が乱れる。

キサントニン酸化酵素は FAD, Mo, Fe の関与する EPR 吸収を示す。このうち Mo に関しては3本の超微細構造を見る。



なる一電子移動の併行が見られる。

3. 長井音次・辻本 毅・川口 茂(和歌山医大第1生理)

酸化的磷酸化反応におけるエネルギー転位系の問題

ミトコンドリアにおける共役性酸化的磷酸化は、呼吸系列における基質の酸化により放出されるべき遊離エネルギーが、仮定的中間物質 (-I) に保存され (energy conservation), 更にこれが I-X を経て高エネルギー磷酸結合を有する X-P に転位され (energy transfer), 最終的にその高エネルギー結合磷酸が磷酸受容体 ADP に賦与されることによって ATP を合成する (Phosphorylation) ものと考えられている。この正反応方向からの研究方法 (Front door approach) と逆反応方向からする研究方法 (Back door approach) が酸化的磷酸化機構の鮮明に認められるが、何れの方向からにせよ、最も不明に残されているのは -I-X 等未同定中間物を含む機構である。

演者等は X-I 又は X-P 化合物を含むエネルギー転位系の反応機構を、この系に作用すると考えられる諸因子、例えば非共役化剤 DNP, 阻害剤 azide, 呼吸解放性 R-factor 等の影響下において逆方向 ATP-ase 活性から観察し、X-I ⇌ X-P 機構を論じた。

1) DNP は X-I をフルに水解する。老化により生起する機構は X-P を水解する。

2) Azide は X-I + Pi ⇌ X-P + I 反応を阻害するが、その阻害はこれを接触する酵素系の基質結合部位を阻害することにより DNP 作用を阻害する。

3) 老化因子, Azide, R-因子, ADP は何れも DNP-被刺戟性-ATPase 活性に対して X-P の基質結合部位を阻害するものであろう。

4. 岡 芳包・宮本博司・大村哲昭・曾根 弘(徳島大第1生理)

琥珀酸脱水素酵素の細胞内活性度測定に関する

研究 (第1報)

顕微分光測光法を応用して, Neotetrazolium 塩による細胞内琥珀酸脱水素酵素活性の測定に関し, 次の成績を追加した. 1) 鶏胚腎遊離細胞を得るため Trypsin 消化を行なったが, 2% Trypsin 37°C, 20分の消化が最適であった. 2) NT及び琥珀酸ナトリウムの磷酸緩衝液溶液の滲透圧について検討し, Gey 氏液と等張にするために加えるべき NaCl の濃度を決定した. 3) 封入剤 (Glycerin-Gelatin) に塩化亜鉛を加えて屈折率を変え, 染色及び無染色細胞について見掛けの光吸収を測定した結果, 屈折率の差異に基づき変化はわずかであった. 4) 無染色細胞において, その赤道面の中心からの距離と見掛けの光吸収 (封入剤と細胞の屈折率の差異に基づく光散乱等による) との関係を探ると, 赤道面の中心から周辺に向って従って見掛けの吸収は大となる. 又封入剤の屈折率をかえても (1.44-1.52) この関係には大差が認められなかった. 5) いかなる反応時間, 反応温度, 基質濃度及び NT 濃度においても, 嫌気的条件下の方が遙かに濃染した. 6) 基質 (琥珀酸ナトリウム) 並に阻害剤 (マロン酸ナトリウム) 作用群においては細胞内 Diformazan 生成は共に反応時間5分より25分迄は時間と直線関係にあることがわかった. 而して一定時間内 (反応時間15-25分の10分間) の Diformazan 生成量の逆数は, 基質と阻害剤との濃度を適当にとれば阻害剤の濃度と直線関係にあることがわかった. これは明らかにマロン酸の阻害が細胞内に於て琥珀酸と拮抗的に生ずることを示している. 尚, 阻害剤と基質の作用開始時期の組合せを種々かえてその阻害度を比較検討したが, 最終濃度を全て同一にとれば何れの場合にも差は認められず, 従って細胞内におけるマロン酸の阻害作用は全く可逆的であると思される.

5. 得本博允 (岡山大学第1生理)

肝細胞の呼吸に及ぼす高水圧の影響 特に基質との関連性に就いて

生活組織に及ぼす高水圧の影響に就いては多くの研究がなされておるが, 今回は肝細胞を用いてその呼吸を主に基質との関連性を中心として研究した成績を報告する.

先ず, 筋内を始め大脳, 腎臓等の諸種の生活組織が 300 kg/cm² 程度の水圧のもとでその酸素消費が充進することは川岡, 河野等が報告しているが, ホモジネートしたものについても同様のことが見られるかどうか, 更に上記加圧による酸素消費促進の作用機序を追求する為, TCA サイクルに関係ある基質を用いて, Warburg 検圧計にて酸素消費を, ネオテトラゾリウム塩並びに Thunberg 法を用いて, 脱水素酵素活性を検査し次の様な結果を得た. 之を要約すると,

1) 酸素消費は 300 kg/cm² の圧では全ての基質に於いて何れも促進効果が現われ, 酢酸, クエン酸グリセロ磷酸の場合は 800 kg/cm² でも酸素消費が促進されている. 此に対し 1000 kg/cm² 以上では全ての基質に於て抑制がみられる.

2) ネオテトラゾリウム塩を用いてコハク酸脱水素酵素活性をみると, 300 kg/cm² では対照より促進的に, それ以上の圧では抑制的に作用する.

3) Thunberg 法でメチレン青の脱色時間を計ると, 基質としてブドウ糖, 焦性ブドウ酸又はコハク酸を用いた場合 1-1500 kg/cm² の範囲で何れも脱色時間の遅延を認める. 然し唯 300 kg/cm² に於いては基質にコハク酸を用いると脱色時間が著しく短縮する.

(以下次号に掲載の予定)

会 報

本会評議員加藤勝治君は36年 8 月27日逝去されました。謹んで哀悼の意を表します。

本会評議員・常任幹事大谷卓造君は37年 2 月 7 日逝去されました。謹んで哀悼の意を表します。

正 誤 表 (24巻 1-2号)

| 頁 | 行 | 誤 | 正 |
|------|---------------|------------------------------------|----------------------|
| 37 | 3 | Fundmamental | Fundamental |
| 本文37 | 右 1 | キルシュナー綱線 | キルシュナー鋼線 |
| 39 | Fig. 3 説明 下 3 | in normal (A, B) and spinal (C, D) | in normal and spinal |
| 39 | Fig. 3 説明 下 1 | tim mark : 5 msec | tim mark : 2 msec |
| 47 | 左 3 | mammalien | mammalian |
| 2号表紙 | 原著目次 2 | 76 | 69 |
| | Originals 2 | 76 | 69 |
| 76 | 左 4 | (1961) | (1962) |