

日本

生理学

雑誌

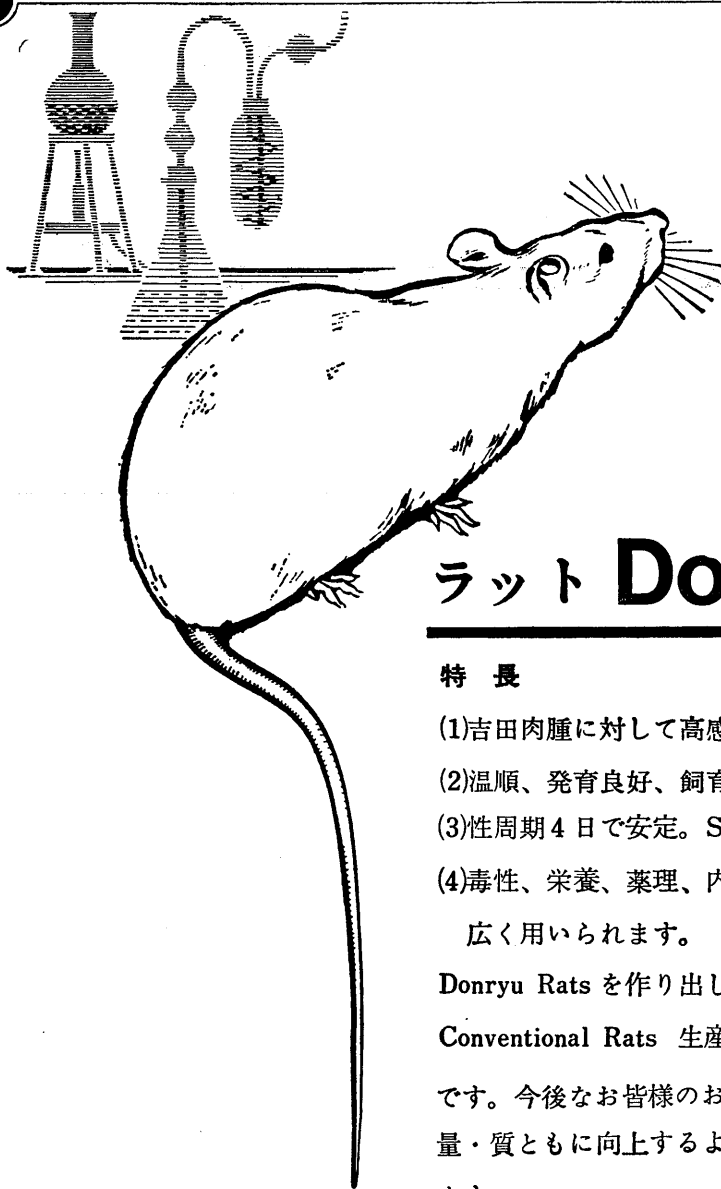
JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

30巻 7号 1968

綜	説
菅野義信：上皮細胞の電気生理	419
原	著
美原恒：実験的脳血腫による線溶亢進とその統御	431
品川嘉也・岡本純子・宇山親雄：アナログおよびデジタル計算機による人体運動のシミュレーション I. 走行と歩行	442
森口尊文：血液内キニン生成機作の分析 I 報. ストレプトキナーゼ (streptokinase) によるキニン生成の条件	446
森口尊文：血液内キニン生成機作の分析 II 報. 大量ストレプトキナーゼ (streptokinase) によるキニン生成機作の分析	457
福本龍：肝胆汁における Bilokinase (Bile plasminogen-activator) の実験生理学的追求	464
石間祥生：ニワトリの心臓の発育過程における興奮性膜の性質の変化について	472
速	報
Ippei Hatakeyama : On the hydrodynamic amplification in vascular system	481
Shinji Itoh・Akihiro Kuroshima・Katsuhiko Doi and keiichi Yoshimura : Plasma levels of free fatty acids in winter in relation to metabolic rate	483
Moto Matsumura : Contracture of a single crayfish muscle fibre	485
Hideonobu Mashima : On the resistance to quick stretch during contraction in frog's skeletal muscle	487
Tadao Kakegawa・Shigeru Matsuzaki and Kiyoshi Yamamoto : Effects of age and body weight on de novo synthesis protein in the anterior pituitary gland of male rats	489
赤池紀生・甲和良夫：ウサギ摘出心房に対するビタミン B ₆ 誘導体の効果	491
地方小学会報	
第13回生理学中部談話会	493
日本生理学史	
東邦大学医学部生理学教室史	504
短	報
〔会報〕 第1回生理学教育委員会議事録	513
第2回生理学教育委員会議事録（案）	513
第1回基礎医学教育懇談会議事録（案）	514
〔書評〕 市岡正道：The cerebellum as a neuronal machine ; Eccles, J. C., Ito, M. and Szentágothai, J.	516
市河三太：A primer of general physiology : Coxon, R. V. and Kay Butterworths, R. H.	517
〔編集後記〕	517
正誤表（30巻3号）	518

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



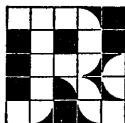
ラット Donryu

特 長

- (1)吉田肉腫に対して高感受性を有す。
- (2)温順、発育良好、飼育容易。
- (3)性周期4日で安定。Skin Grafto 高率。
- (4)毒性、栄養、薬理、内分泌その他、
広く用いられます。

Donryu Rats を作り出した日本最大の
Conventional Rats 生産専門メーカー
です。今後なお皆様のお役にたつため
量・質ともに向上するよう努力いたし
ます。

飼育系統——〈Donryu〉〈Wistar〉〈Buffalow〉



日 本 ラ ッ ト (株)

埼玉県浦和市根岸608-3
TEL (0488) 61-6850

第46回日本生理学会総会開催の御案内（第1報）

下記の要領により第46回日本生理学会総会を開催いたします。

1. 会 期 昭和44年4月1日（火）、2日（水）、3日（木）、日程は下記の予定です。

	3月31日（月）	4月1日（火）	2日（水）	3日（木）
午 前		一 般 講 演	一 般 講 演	一 般 講 演
昼 食 時			総 会	
午 後	常任幹事会 (若手シンポジウム)	一 般 講 演 評 議 員 会	一 般 講 演	一 般 講 演
夜			生理学将来 計 画 討 議	

2. 開催地および会場 鳥取県米子市西町 鳥取大学医学部

3. 演題，参加申込み

- 1) 演題申込み締切 昭和43年11月11日

申込み用紙は第2報（10月10日発送予定）と共に送ります。

- 2) 演題申込み要領

講座または研究施設1単位につき2題以内の演題を申込み得、申込みと同時に予稿集用の200字以内の抄録を添えるものといたします。演題の採否は当番幹事におまかせ頂きます。なお、申込み要領の詳細は第2報でお知らせいたします。

- 3) 参加申込み受付 第2報で連絡いたします。

4. 宿泊申込み

- 1) 共済組合関係の宿舎に宿泊御希望の方は先着順に約300人に限りお世話いたします。1泊2食で1,000円ないし1,500円です。往復はがきに氏名、性別、所属、宿泊日等御記入の上、総会宿舎係宛に至急申込み下さい。9月末迄には宿泊の可否御返事する予定です。これら宿舎のほとんどが会場へ車で約15分の市内皆生温泉にあります。

- 2) その他の方には、下記の料金でお世話いたします。

申込用紙は第2報（10月10日発送予定）と共に送ります。

なお、これらの旅館も上記皆生温泉地区にあります。

宿泊料金（1泊2食、サービス料、税別）

- A. 5,000円（2～3人）個室希望の場合は6,000円
B. 3,000円（3～4人）個室希望の場合は3,500円
C. 2,500円（3～4人）， D. 2,000円（3～4人）， E. 1,800円（3～5人）
F. 5,000～6,000円（ルームチャージ、食事なし 4～8人）

5. 観光案内

Aコース（春の大山）日帰り—3時間

Bコース（歴史の故里—松江，出雲大社，日御崎）日帰り—6時間

そのほか 鳥取砂丘，浦富海岸，隠岐島，浜村，東郷，潮，玉造温泉などもあります。
また隠岐島観光（1泊を要す）の御希望が多ければ計画してもよいとおもいますので，
御希望の方は氏名，性別，所属を御記入の上，8月末日迄に総会観光係宛申込みねがいます。
詳細は第2報でお知らせします。大阪，東京方面からの皆様には米子空港もあり
空からの山陰海岸の美しさは格別で，また四国，九州方面の方は国道9号線も全線舗装
となり，自動車でおいでになるのも一興とおもいます。

6. 若手シンポジウム

3月31日（月）午後1時より岡田勝喜助教授の世話で行なう予定です。

昭和43年6月25日

当 番 幹 事 鳥取大学医学部第1生理学教室 山 田 守
鳥取大学医学部第2生理学教室 及 川 俊 彦

〔地方会予告〕

第38回近畿生理学談話会のお知らせ

下記のように談話会を開きますので，演題をお寄せ下さい。

1. 日 時 10月19日（土）午前10時より
2. 場 所 奈良県立医科大学第2臨床講堂
3. 演題申込先 奈良県橿原市四条町840 奈良県立医科大学第1生理学教室
4. 申込締切 9月10日 講演要旨（800字以内）をそえて下さい。

当 番 幹 事 鎌 倉 勝 夫・榎 泰 義

第179回生理学東京談話会のお知らせ

「膜の機能に関するシンポジウム」とし，下記の如く開催致しますので多数御参加下さい。

記

1. 日 時 昭和43年10月5日（土）午後2:00—5:30
2. 場 所 新宿区河田町10 東京女子医科大学本部講堂
3. 演題ならびに演者
 - I. 人工二重膜の興奮性：阪大理生物 高木雅行
 - II. Bi-ionic system 中での興奮膜の特性（仮題）：東京医歯大第2生理 渡部 昭（または竹中敏文）
 - III. 化学的シナプス膜の機能について：順天堂大第1生理 竹内 昭
 - IV. 腸管における非電解質輸送：東大医第1生理 小松行雄

当 番 幹 事 菊 地 鎌 二・渡 辺 宏 助

〔綜説〕

上皮細胞の電気生理 612.014, 423

Electrophysiology of epithelia

菅 野 義 信 (Yoshinobu Kanno)*

はじめに

興奮性組織の電気生理学的研究には長い歴史があり、立派な多数の研究成果がある。これを基礎に近時細胞内微小電極法の技術が導入され、実験と研究は躍進した。

一方腺細胞等の上皮系に属するいわゆる非興奮性組織 (none-excitabile tissue) は、分泌等緩徐な反応を指標にして研究されては来たが、電氣的微小変動を外部電極で導出することは甚だ困難であった。加えて粘膜上皮細胞や膀胱膜上皮細胞の如く外部に全く反応を示さない非興奮性組織の研究は殆んど不可能であった。微小細胞内電極法で1コ of 興奮性細胞内より細胞静止膜電位、活動電位等の誘導に成功し、以来この技術の応用範囲が漸次拡大され、活動電位を発生しない非興奮性組織の細胞へも導入されるようになった。

細胞内電位誘導法を用うれば、興奮性細胞では活動電位にまで至らない小さい局所電位 (local potential) や後シナプス電位 (EPSP or IPSP) 等細胞内の微小電位変動の検出が可能となる。非興奮性組織では分泌に伴う微小細胞内電位変動等の記録ができ、電気生理学に多くの知見を加えた。本文では非興奮性組織である上皮系の細胞を中心に最近の電気生理学による成果を総括してみたい。

I. 細胞静止膜電位

静止膜電位は活動電位と共に、細胞外電極を使用してもかなり正確に測定できる (Hodgkin³³⁾³⁴; Hodgkin and Rushton⁴²; Katz⁶⁹; 佐藤

¹¹⁵)。しかし実際には、電極を細胞内に挿入し、膜を横切る電位差の測定に (Hodgkin and Huxley³⁵⁾³⁶; Ling and Gerard⁷⁷; Nastuk and Hodgkin¹⁰⁷) 比すと、細胞質の内部抵抗と外液の抵抗との比を別の実験で測定したり、複雑さは否めない。また外部抵抗を上昇させるため細胞膜の外側を乾燥することは有髄神経線維についてのみ適用可能であるが、細胞膜の外側に髄鞘の如き防禦用附属物の無い上皮細胞では全く不可能である。細胞内微小電極法が上皮細胞の静止膜電位測定には最上の方法である。

Table 1 はガラス毛細管微小電極により測定した上皮系組織の細胞静止膜電位である。特殊なものを除いて、一般に興奮性細胞の細胞静止膜電位 (Eccles²¹) より小さく計測されている。

非興奮性細胞の静止膜電位測定には若干の問題がある。興奮性膜では電極刺入時の膜の電流漏洩がある程度以上になると、いかえれば実際の生理的静止膜電位が脱分極してくると、regenerative な活動電位が発生したり、いわゆる injury discharge が生ずる。またさらに長時間の脱分極では興奮性膜の不活性化を起してくる (Hodgkin and Huxley³⁷⁾³⁸⁾³⁹⁾⁴⁰; Hodgkin et al.⁴¹; 橋橋¹⁰⁶)。したがって膜の傷害等による非生理的な脱分極を察知することができる。若し外液中の Ca の濃度が高いと、上述の現象が起らないこともあるが通常の生理的塩類溶液中 (Ca の濃度が 5 mM 以下) で実験している限り、非生理的脱分極を伺い知ることができる (勝木・菅野⁶⁷; 橋橋¹⁰⁶)。これに反し、非興奮性膜では、活動電位の発生等都合良い指標がないため極端に脱分極を起し、いわば死にかけた細胞膜の両側の電位差を測定し、静止膜電位とみる危険がある。また消化器系粘膜上皮細胞は消化管粘膜側の表層に一層にのみ存在するの

* 広島大学歯学部生理学教室

Department of Physiology, School of Dentistry,
Hiroshima University

で、粘膜側より電極を導入する時、粘膜上皮層を起えて、次の平滑筋の層に電極が入り込み易い(松井他⁹⁷⁾; 森田他¹⁰¹⁾). 平滑筋の静止膜電位と誤らぬよう充分明視下で粘膜上皮細胞を確認して測定する必要がある、注意を要する。

今日静止膜電位は細胞膜の両側の電解質の濃度差によることが、興奮性膜についてはほぼ確立されている(Eccles²¹⁾; Hodgkin³⁴⁾; 佐藤¹¹⁵⁾). 哺乳動物の体液は溶解している塩類の濃度が一定であり、また海産動物の体液はほぼ塩類濃度の一定な海水に等しいので、何れの場合も細胞外液の塩類組成は一定である。しかし昆虫の体液は季節による食物の差により著しく影響を受け、生理的塩類溶液の組成を知ることさえ甚だ困難なことが知られている(Lockwood⁷⁸⁾). 外液の電解質の組成、濃度の変動は直ちに細胞の静止膜電位に影響をおよぼす。コクゾウムシの筋肉細胞の細胞膜は興奮性細胞膜であるが、静止膜電位が甚だ広い範囲にわたることが知られている(Belton et al.¹⁰⁾). さらに静止膜電位の測定に大きな誤りを犯し易いものに電極の先端電位(tip potential)がある(Adrian¹⁾). 細胞膜周辺に粘液分泌があり、膜自身粘性に富む上皮系の細胞では膜を電極が貫く時、電極の先端電位が増大しがちで、その値だけ静止膜電位の測定に誤差を与える(Loewenstein and Kanno⁸¹⁾).

上皮細胞の静止膜電位も興奮性細胞と同様主として K^+ の濃度差に基いているといわれている(Kanno et al.⁵²⁾). しかし外液の K 濃度の増減が必ずしも次式(1)に一致しないところから、 Cl^- 等他の電解質の濃度差の関係を無視できない。

$$E = -\frac{RT}{F} \log_e \frac{[K]_i}{[K]_o} \quad (1)$$

E : 静止膜電位, T : 絶対温度, R : 気体常数, F : ファラデー常数, $[K]_i$: 細胞内部の K^+ の濃度, $[K]_o$: 細胞外すなわち外液の K^+ の濃度。

II. 活動に伴う電位変動

上皮細胞は非興奮性細胞膜で囲まれているから、all or none の活動電位すなわち regenerative action potential は発生しない。しかし腺細胞においては支配神経(副交感神経)の刺激、また分泌との関連のある膜電位変化があり、電位変動と分泌活動が一致している場合には分泌電位(secretory potential)とも呼ばれている。本節ではこのように細胞が何等かの活動をする時発生する細胞膜電位変動を取り扱う。

腺細胞の分泌と電位変化の關係に注目して行なった研究は、前世紀の末、すでに手がけられている(Bayliss and Bradford⁸⁹⁾; Burgen and Emmelin¹³⁾). すなわち鼓索神経刺激により、顎

Table 1. Resting membrane potential of various epithelial cells

組 織 名	静止膜電位 -mV	出 所
ショウジョウバエ幼虫唾液腺	12±0.7	(80)
イモリ胃粘膜上皮細胞	46±2.0	(63, 64, 97, 101)
イモリ腸粘膜上皮, ひだ上凸部	41±2	(63, 64, 97, 101)
イモリ腸粘膜上皮, ひだ陥凹部	38±1	(63, 64, 97, 101)
Gerbil 培養したクロム親性細胞	30	(46)
ネコ顎下腺 第1型	22 (15~32)	(13, 88, 93)
ネコ顎下腺 第2型	35	(13, 88, 93)
ネコ顎下腺 第3型	80	(13, 88, 93)
イヌ顎下腺 基底部	42±7	(43)
イヌ胃粘膜上皮細胞	51	(98)
ヒト胃粘膜上皮細胞	55	(99)
ヒト胃粘膜上皮細胞	24~35	(123, 124)
ヒト胃粘膜上皮細胞	10	(4)

下腺の唾液分泌量は増加し、頸部と体部との間に電位差が生ずるという (Langenskiöld⁷³) ; Van Harreveld¹²⁷). 近時は微小電極の細胞内使用により、直接細胞膜を横切る電位変動を誘導記録したのは Lundberg である。彼は初めネコの顎下腺を用い、腺細胞の電気的性質を詳細に調べ、3つに分類した。すなわち Type 1 は静止膜電位は凡そ 22 mV 内部陰性であるが、鼓索神経を刺激すると唾液分泌増加に先だち 30 mV ほど過分極方向に緩徐な電位変動を生ずる。Type 2 は静止膜電位は 35 mV 内部陰性とやや深く、刺激によっては膜電位は多少過分極側に移動する。Type 3 は静止膜電位が内部陰性 80 mV と大きく、刺激により脱分極方向に 10~20 mV の変動がおきる (Lundberg^{88,93})。後にはネコの舌下腺でも過分極電位を見出し (Lundberg⁸⁹)、さらに電位変動を外液の電解質の濃度との関連において追求した (Lundberg^{90,91,93})。

イヌの顎下腺細胞では静止時内部陰性 42 mV の膜電位であるのが、鼓索神経刺激により 1 ないし 2 秒後には 57 mV と過分極を起こすという (今井⁴³)。これ等の電位変動は刺激により過分極方向に電位変動が出現するという点で、一般に興奮性組織にみられる regenerative action potential とともに感覚受容器にみられる receptor あるいは generator potential と全く異なるものである。強いて類似性を求めれば網膜内でえられる S-potential には、刺激光の波長によっては過分極電位変動が見られる (Svaetichin¹²¹)。

唾液腺以外の腺細胞では近時副腎の電位変化が研究されている。髄質のクロム親性細胞 (chromaffin cells) に acetylcholine を適用すると副腎髄質ホルモンの catecholamine の分泌が促進される。この時細胞の陰性膜電位は静止時より脱分極傾向を示すが、外液の Na^+ を除くと脱分極の大きさが 30% に減少するという。 Na^+ を欠く外液中では、分泌に伴うこの脱分極は今度は外液中の Ca^{++} の濃度の対数に比例する。また外液の Na^+ の濃度に無関係に Ba^{++} と K^+ の濃度上昇により分泌の脱分極が生ずる。しかし脱分極の大きさと分泌量は決して直線関係

にない。したがって脱分極と分泌現象との間に直接の因果関係を考えることは無理があるという (Douglas et al.²⁰)。分泌を促進させる nicotine, pilocarpine, histamine, angiotensin, bradykinin 等は何れも細胞に脱分極を惹起するという (Douglas et al.¹⁹) ; 菅野⁴⁶)。腺細胞の分泌と電位変動の関係すなわち一種の excitation and secretion coupling と呼ばれるべき問題は猶今後に残された研究課題であろう。

Ⅲ. 細胞膜抵抗

一般に細胞の膜抵抗を測定するには、細胞内に刺入した電極から、外液の不関電極へ向け短い矩形波電流を通電し、通電による電位変化を同じ細胞内に刺入した第 2 の細胞内電位記録電極で誘導記録し、与えた通電量で除せば、実効膜抵抗 (effective membrane resistance) がえられる。したがって 2 本の微小電極を同一細胞内に挿入せねばならず、細胞の大きさ、電極周辺の膜の電気漏洩に対する態度等により実験材料に制限をうける (菅野⁵³) ; 勝木・菅野⁶⁸)。その後 bridge circuit を使用し、電極の抵抗は相殺し、通電による膜抵抗に基く電位変化のみを導出するよう bridge の balance を調整すると、1 本の電極で通電と電位記録と兼ねさせることができる (Araki and Ohtani²) ; Ito⁴⁴) ; Kobayashi et al.⁷¹) ; Loewenstein and Kanno⁸⁴)。この方法で測定可能な実験材料を大巾に拡大した。測定すべき細胞が例えば血液細胞や卵細胞の如く電氣的に孤立している場合は細胞表面積を算定し、単位面積あたりの膜抵抗 (specific membrane resistance) を容易に計算できるが、上皮組織の細胞では細胞と細胞が互に接触する部の膜 (以下接面膜 junctional membrane と称し、細胞と外液の間を隔てる膜の部位を表面膜 surface membrane と呼び両者を区別する) は屢々表面膜に比し膜抵抗が低い。したがって実効膜抵抗に直接関係ある膜の表面積の算定が不可能で、膜抵抗の算出もできない。また実効膜抵抗は同一値の膜抵抗を持つ細胞であれば、表面積の大小、つまり細胞の大小や接面膜の抵

抗の高低等により値の分布が大変広くなる。実効膜抵抗値の比較は単純にはできないので、以下代表的測定例を個々に記述する。

イヌ顎下腺の静止時の実効膜抵抗は $18 \pm 12 \text{ M}\Omega$ と測定され、鼓索神経刺激の1～2秒後には $14 \pm 11 \text{ M}\Omega$ と減少する。持続刺激では逆に $26 \pm 13 \text{ M}\Omega$ と増加する。直径 30μ の球として細胞表面積を概算し、膜抵抗を求めると静止時 $540 \Omega\text{cm}^2$ となる (今井⁴³⁾。ネコの舌下腺細胞の接面膜の膜抵抗はほぼ表面膜の膜抵抗に等しく高いので (菅野^{59,60}) ; 菅野他⁶⁵⁾, 同じ哺乳動物であるイヌでは神経支配の程度による関係から、接面膜の抵抗が特に低いとは考え難い。興奮性膜である筋細胞膜の $1,500 \sim 4,000 \Omega\text{cm}^2$ (Davson¹⁵⁾) に比し $540 \Omega\text{cm}^2$ は低過ぎるようにも思われる。しかしイヌ顎下腺の表面膜には深い褶曲のあることが電子顕微鏡で確かめられているので (藤田他²⁴⁾, 膜の表面積は実際には数倍にもおよぶとみられる。したがってイヌ顎下腺の細胞膜抵抗はそれほど低くなく、筋細胞の膜抵抗と大差はなくなる。しかしまた非興奮性膜である海産動物の卵で、ハマグリ (一種 *Spisula solidissima*) の $6 \Omega\text{cm}^2$ からヒトデ (*Asterias forbesi*) の $860 \Omega\text{cm}^2$ (Kanno et al.⁵⁰⁾) と種の相違による値の差が著しい。上皮系細胞の膜抵抗にもかなり低いものから高いものまで広く存在するものであるらしい。ネコでは実効膜抵抗が静止時 $2 \text{ M}\Omega$, 分泌電位発生時には $1.8 \text{ M}\Omega$ と報告されており、細胞表面積を推定し、

算出した膜抵抗は $5 \Omega\text{cm}^2$ と著しく低い (Lundberg^{91,93)}).

同じ唾液腺でも昆虫のショウジョウバエ (*Drosophila flavorepleta*) の幼虫では接面膜の抵抗は極端に低く、殆んど細胞質と同程度であることと、唾液腺全体の形が細長いので恰かも1コの筋線維細胞の如き電気的性質を有し、膜抵抗は細胞表面膜の褶曲を考慮に入れて $12,000 \Omega\text{cm}^2$ と計算されている (Kanno and Loewenstein⁴⁷⁾ ; Loewenstein and Kanno⁸²⁾).

その他調べられたものを Table 2. に掲げた。何れの細胞でも実効膜抵抗は微小電極で細胞内通電・記録法で測定できる。接面膜の低抵抗を考慮に入れ、且つ表面膜の褶曲を含めた単位面積あたりの膜抵抗の算定は非常に困難である。Table 2 に表わした膜抵抗は特殊な方法で計算してあり、個々の例については出所の文献を参照されたい。動物の種または組織の相違等材料によって大差があるが、果して実際膜抵抗にこれほど大きな差があるかは多少の疑念が残る。

IV. 細胞接面膜の特殊性質

ショウジョウバエの唾液腺は接面膜の抵抗がほぼ細胞質の抵抗に類似して低いので、Fig. 1 上部挿入図の如く電気的には唾液腺全体が1コの細胞のように取扱うことができる。すなわち一番左の上部×印に通電電極を入れ、電位記録電極を極く近傍に刺入し、通電による電位を記

Table 2. Input effective membrane resistance of various epithelia measured

	実効膜抵抗 (MΩ)	膜抵抗 (Ωcm ²)	出 所
ショウジョウバエ幼虫唾液腺	0.6-0.8	10,000	(87)
ユスリカ幼虫唾液腺		9,000	(87)
ユスリカ腎上皮		3,000	(87)
ガマ膀胱膜上皮		100	(87)
ネコ耳下腺 (静止時)	2.2	7	(65)
ネコ舌下腺 (静止時)	2.0	5	(90, 92)
ネコ舌下腺 (分泌時)	1.8	4.5	(90)
イヌ顎下腺基底部 (静止時)	18	540	(43)
イヌ顎下腺基底部 (分泌時)	14	420	(43)
ヒト胃粘膜上皮	5.5	61	(4)

録し、その後次々と図の如く電位記録位置を次第に変え、各点で得る電位を縦軸に対数で表わし、横軸に距離を図示すると直線上に並ぶ。1本の長い神経線維の如く cable theory に一致する (Kanno and Loewenstein⁴⁷) ; 菅野⁵⁵)。神経線維に比し、唾液腺は長さの割に巾が太いことと、一端に通電すると、通電位置の両方向に全く同様には電流が流れないので cable theory に hyperbolic function を適用すると直線性がさらに増大する (Loewenstein and Kanno⁸²)。接面膜の透過性が表面膜より高いことは程度の差はあっても広く他の上皮系組織の細胞でも発見されており、上皮組織系の一般性質の一つと思われる (菅野⁶²) ; Loewenstein⁷⁹)。それを表にしたのが Table 3 である。ある1コの細胞に通電電極を刺入して通電し、その細胞から得た電位を V_A とし、隣接細胞から得た電位を V_B とし、 V_B/V_A を結合比 (coupling ratio) と呼ぶ (Loewenstein et al.⁸⁷)。したがって結合比は1以下の値をとり、1に近く大きいほど接面膜の透過性が高く、機能的結合の程度が大きいといえ

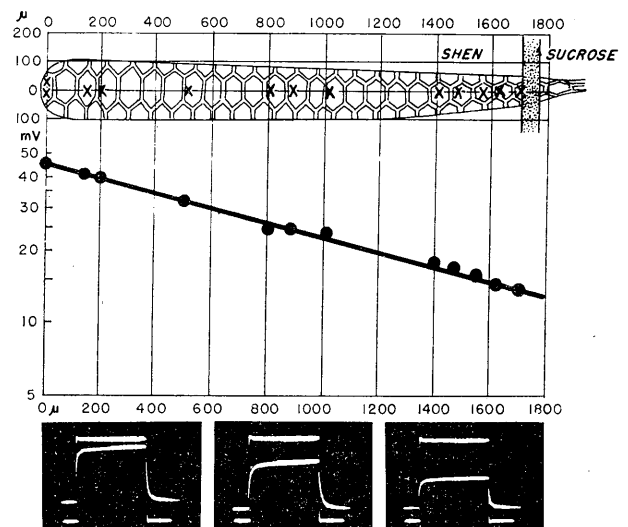


Fig. 1. Resistive membrane voltage attenuation along distances between current and recording electrode. Current is passed between a microelectrode in one cell (length 0 on *abscissae*) and the exterior, and the resulting resistive membrane voltages (*ordinates*) are recorded across the membranes of cells located at varying distance (*abscissae*) from the current microelectrode. Upper inset, camera lucida drawing of the gland epithelium; the crosses denote points of electrode insertion. Lower inset, samples of records of passing current (upper beam) and membrane voltage (lower beam) at 0, 200, and 800 μ . Current pulse duration, 60 msec.

Table 3. Coupling ratio of various epithelia

	結 合 比	出 所
ショウジョウバエ唾液腺	0.93 ± 0.09	(61, 87)
ユスリカ唾液腺	0.8 ± 0.1	(61, 87)
ネコ唾液腺	0.026 ± 0.01	(61, 87)
ユスリカ腎上皮	0.5 ± 0.2	(61, 87)
ロレンツィニアン感覚上皮	$0.08 \sim 0.5$	(61, 87)
イモリ胃粘膜上皮	0.47 ± 0.2	(61, 62, 63, 64, 96)
ヒト胃粘膜上皮	0.01	(4, 66)
イモリ腸粘膜上皮	$0.05 \sim 0.5$	(61, 62, 63, 64, 96)
フグ上延髄神経節細胞	$0.09 \sim 0.13$	(12)
ダイコクネズミ肝	0.89 ± 0.09	(57)
ハツカネズミ肝	0.75	(57, 108)
ガマ膀胱膜上皮	$0.4 \sim 0.8$	(61, 87)

る。結合比は動物の種 (菅野⁶⁰), または器官・組織の種類により大いに異なる。同種の組織でも動物の種により, 同一種動物でも上皮系の組織, 器官のちがいにより神経の支配力に強弱がある。神経支配の弱い組織では, 統制が不充分であり, 別に接面膜を越えて移動しうる物質による情報により, 組織の統制や制御を行なうとみれば, 接面膜の高透過性を良く説明できる。一方神経支配力が強ければ物質の細胞間移動による統制は不必要で, 接面膜の透過性も低い。

通電による電流が接面膜を越えて隣接細胞に流入することは, 物質でいえば K^+ , Cl^- , Na^+ 等細胞内電解質が接面膜を越えて移動することである。次第に電解質より大きい分子量の物質を蛍光化し, または色素を tracer として細胞内に注入し, 表面膜を越えて外液中には流出しないが接面膜の方は越えて隣接細胞に流入する物質が探究されている。蛍光 Na の分子量 332 から, 分子量 1,000 までの色素は接面膜を自由拡散で通過することが先ずショウジョウバエ唾腺で調べられた (Kanno and Loewenstein⁴⁸)⁴⁹; 菅野⁶¹; Loewenstein and Kanno⁸²)。現在接面膜を通過し得た最大分子量のものは 69,000 の蛍光化した血清蛋白である (Kanno and Loewenstein⁴⁹)。

しかし他面この接面膜の高透過性は甚だ不安定であり, 外界の, 外液の組成の変化等で良く

変化する (菅野⁶¹; Loewenstein⁷⁹; Loewenstein et al.⁸⁵)。変化は必ず透過性の低下, すなわち抵抗上昇の形をとる (菅野⁶¹)。Fig. 2 はヒト胃粘膜上皮細胞の静止膜電位と実効膜抵抗の時間的推移を示している (菅野⁶⁶)。人体より手術摘出後低温の ($3^{\circ}\sim 6^{\circ}C$) 生理的塩類溶液中に保っても, 実効膜抵抗の上昇から, 接面膜の透過性は漸次低下してくることが伺える。摘出後 2 時間程度で実効膜抵抗上昇が開始し, 静止膜電位も脱分極傾向を示す。3 時間から 5 時間程度まで, 一時静止膜電位は安定に保持される時期がある。表面膜に大きな変化はおきてないとみられるが, 接面膜抵抗の上昇により, 通電電流に対する細胞膜の表面積が減少したのと同様な結果となる。静止膜電位は安定し, また表面膜の膜抵抗は変化しないにも拘らず, 実効膜抵抗の上昇がみられると考えるのが最も自然であろう。7 時間以後では表面膜自体の膜抵抗減弱, その他膜に傷害が生じ実効膜抵抗も急激な減少をきたす。Fig. 2 はヒトの胃粘膜細胞の例であるが, 同じことはダイコクネズミの肝でも見出されている (菅野⁵⁷)。血液の供給停止による接面膜透過性の変化とみられる。この他にも外液中の Ca^{++} の除去 (菅野⁵⁸; Loewenstein et al.⁸⁵; Nakas et al.¹⁰⁵; Penn and Loewenstein¹⁰⁹), 高張液の適用, 水素イオン濃度の著しい変化, 蛋白質分解酵素の適用 (Loewenstein et al.⁸⁵), 組織の変性 (Loewenstein and Penn⁸⁶) 等で接面膜の透過性が低下することが報告されている。興味あることは Mg^{++} の存在は除 Ca^{++} の効果を防ぎ (Nakas et al.¹⁰⁵), ザリガニの巨大神経の septa では外液中の Cl^- を glycerophosphate で置換しても接面膜の抵抗は変化しないが propionate, acetate, isothionate で置き代えると透過性の低下がおこる (Asada et al.³)。変化は全て透過性の低下であり前述の tracer として物質の細胞内注入実験でも同様の結果となることが確かめられている (Kanno and Loewenstein⁴⁹)。

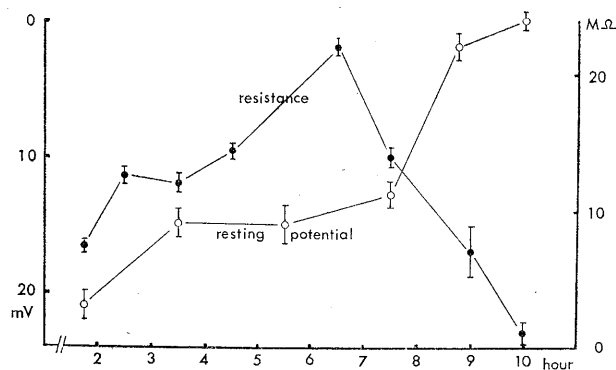


Fig. 2. Time sequence for the resting membrane potential (open circles) and the effective resistance (closed circles) of human stomach epithelial cells.

V. 細胞接合部の微細構造

細胞質の外側を取り囲んでいる形質膜の研究は電子顕微鏡により精しく調べられ、2枚の蛋白質の薄膜にはさまれた脂質より成り、三重構造がみられるという (Davson and Danielli¹⁶). Robertson はこれに単位膜 (unit membrane) という概念を与えた (Robertson¹¹⁰111)113). これは興奮性膜でも非興奮性膜でもかわりない. 一般に、単に細胞と細胞が並んで接触していても、二つの単位膜が並び、その間には 150 Å 以上の細胞間隙があり、特別の構造はない. しかし上皮細胞は集団をなし、互いに密接に並んで接触しており、接触部には強固な結合がある. 細胞同士との相対位置が変化しないよう固定しているものと思われる微細構造にも特殊なものがみられ、接着として分類されるものに接着斑 (Macula adhaerens, or desmosome), 接着帯 (Zonula adhaerens), septate junction の三つがある. 機能的には単に細胞が位置的に結合していると思われている (山田¹³²). 何れも細胞間には 150 Å 以上の細隙があり、その間を別の物質が埋め、糊で接着したように見える.

これに反しもう一つの細胞間特殊構造に癒着 (fusion) がある. これは接触細胞間の細胞間隙が消失し、互いに単位膜の外側の1枚が癒合して、合計五重層膜を形成している. これも点状に存在する場合と、連続的に存在する形とがあり、それぞれ癒着斑 (Macula occludens), 閉鎖帯 (Zonula occludens, or tight junction) と称している (山田¹³²). 後に上皮組織系に接着帯、接着斑、閉鎖帯の存在が広く確認され、3者を junctional complex と呼んだ (Farquhar and Palade²²23). この特殊構造の働きとしては、上皮組織で構成される壁に対し、物質が細胞間隙をすりぬけて壁の反対側へと受動的に移動するのを防ぐという意味で watertight junction と呼んでいる. 実際尿の充満で薄く引き伸ばされた膀胱膜の外へ尿が漏出するのを防ぎ、消化過程においては物質を必ず一度は粘膜上皮細胞内に pinocytosis により摂取し、細胞内を通過し

再び pinocytosis で排出し、粘膜上皮細胞の層の一方から反対側へ移動させるのであって、細胞間隙をすりぬけては都合が悪い. さらに上皮細胞の表面膜には深い褶曲があっても必ず単位膜より成り立つのに、接面膜には各種の特殊構造があり、また接面膜の透過性の高低と微細構造の関係から特に閉鎖帯 (Zonula occludens, or tight junction) が高透過性部位と考えられている (Wiener et al.¹³¹). 接面膜の透過性の差は癒合面の面積の大きさや、また同じ tight junction でも多少異なる電子顕微鏡像が示されているところから頷ける. 細胞から細胞への物質移動が分子の大きさによっては fused membrane の所で可能となると、興奮性組織での細胞密着部で若し fused membrane 構造があれば興奮伝達にシナプスの伝達物質の媒介を必要としない. 実際ザリガニの巨大神経線維の septa (Hama²⁸; Watanabe and Grundfest¹²⁸), 巨大神経線維と運動ニューロンとの間 (Furshpan and Potter²⁵), 巨大神経の内側接合部 (Robertson¹¹²; Watanabe and Grundfest¹²⁸), 金魚の第Ⅷ神経と Mauthner 細胞との間 (Furshpan and Furukawa²⁶; Furukawa and Furshpan²⁷; Robertson et al.¹¹⁴), 心筋の境界板 (Barr et al.⁷; Muir¹⁰²103; Sjöstrand and Andersson¹¹⁷; Sjöstrand et al.¹¹⁸; Van Breemen¹²⁶; Lehmkuhl and Sperelakis⁷⁵76; Sperelakis and Lehmkuhl¹¹⁹; Sperelakis and Tarr¹²⁰; Weidmann¹²⁹130) 平滑筋の接合部 nexus (Dewey and Barr¹⁷18; Kobayashi et al.⁷⁰71), フグ上延髄神経節細胞 (Bennett et al.¹²), および硬骨魚脊髄神経節 (Bennett et al.¹¹), ヒルの神経節細胞とグリア細胞の間 (Coggeshall and Fawcett¹⁴; Kuffler and Potter⁷²) 等は微細構造と電気生理学的研究が互いに良く連係をもっている. 興奮性膜の細胞の接合部については上述の文献を挙げるにとどめ詳細は省略する.

VI. 上皮性腫瘍細胞の電気的性質

微小電極法手技が発達し (菅野⁵⁴; 勝木・菅野⁶⁸; Ling and Gerard⁷⁷), 各種の細胞の電気

的性質の測定研究が可能になると、非上皮性腫瘍をも含めて、各種腫瘍細胞の研究報告が出現してきた。あるものは腫瘍細胞の静止膜電位は内部陽性のものが多く、 Na^+ に対する膜の選択的透過性が興奮性膜や正常上皮細胞と異なるのが原因であろうと述べている (Johnstone⁴⁵) ; 中村・鳴海¹⁰⁴)。しかし他の大部分の研究では静止膜電位および膜抵抗そのものに一般上皮細胞と大差を認めていない (Aull⁵) ; Aull and Hempling⁶) ; Hempling^{29,30,31}) ; Hempling and Kromphardt³²) ; 菅野^{56,57,61}) ; 菅野他⁶⁶) ; Lash et al.⁷⁴) ; Loewenstein and Kanno^{83,84}) ; Maizels et al.^{94,95,96}) ; 森岡⁹⁹) ; 森岡他¹⁰⁰) ; Sekiya¹¹⁶) ; Tanaka¹²²)。静止膜電位の時間的経過を追求し、膜電位が甚だ緩徐に変化することに腫瘍細胞の特徴を帰している報告もある (森岡他¹⁰⁰) ; Tanaka¹²²) ; Tokuoka et al.¹²⁴)。以上の研究の多くは腹水型の腫瘍細胞すなわち細胞が1コ1コばらばらに孤立して存在する腫瘍についての研究であり、膜自体の微細構造に大きな特徴がなく、正常非興奮性細胞と大差のない電気的所見を勘案すると、腫瘍細胞の特性を電気生理学的に鮮明に示したとはいえない。

接面膜の抵抗の変化を指標としダイコクネズミの肝腫瘍細胞を取り扱ったものがある。ダイコクネズミ、ハツカネズミとも肝細胞の接面膜の抵抗は甚だ低い。ある1コの細胞内に適当量の通電を行なうと、十数枚の接面膜を横切り、 300μ にもおよぶ距離まで電流が流れ届く (Penn¹⁰⁸)。肝に腫瘍が発生すると腫瘍細胞の部位では完全に機能的結合が切断され、独立するので、細胞内通電電流は隣接細胞に流れ込むことはない、すなわち結合比は零となる。また腫瘍部位の近くで、病理組織学的には正常と判定される部位でも接面膜の抵抗が著しく上昇している (菅野^{56,57}) ; Loewenstein and Kanno^{83,84})。ヒトの胃粘膜上皮でも同様のことが観察されている (浅野他⁴) ; Kanno et al.⁵¹)。

腫瘍化により接面膜の微細構造が如何に変化するか電子顕微鏡による研究も行なわれている (Usui¹²⁵)、未だ充分接面膜の抵抗変化を説明

するに足る所見はえられていない。腫瘍化と接面膜抵抗上昇のどちらかが原因でどちらが結果であるかは明らかでない。特に正常な組織で甚だ透過性の高い接面膜が血液供給の停止等の各種の要因で透過性低下を招き易い。したがって腫瘍化が低透過性を惹起したか、他の要因の効果で低透過性をおこし腫瘍発生の誘因になったかもしれない。しかし腫瘍にみられる接面膜の高抵抗、低透過性は甚だ重要な事柄で上皮組織内の細胞の制御、統制を逸脱したものが腫瘍であるとも考えることも、あながち無理とはいえない。

おわりに

文中しばしば接面膜の低透過性、高抵抗というように2種の語を随時使用した。 K^+ , Na^+ , Cl^- 等のイオンについては二者は全く同一の意味を有する。非電解質が膜を通過するときは透過性が高いといった方が良いとも思うが二者を厳密には区別しなかった。

本文では非興奮性膜よりなる上皮組織系の細胞の電気的性質を簡単に展望した。できるだけ広く文献を渉猟したが脱落もあることと思う。大方の御教示を戴ければ幸甚である。

文 献

- 1) Adrian, R. H. (1956) The effect of internal and external potassium concentration on the membrane potential of frog muscle. *J. Physiol.* **133**, 631-658
- 2) Araki, T. and Ohtani, T. (1955) Response of single motoneurons to direct stimulation in toad's spinal cord. *J. Neurophysiol.* **18**, 472-485
- 3) Asada, Y., Pappas, G. D. and Bennett, M. V. L. (1967) Alteration of resistance at an electronic junction and morphological correlates. *Fed. Proc.* **26**, 330-330
- 4) 浅野美代子・松井洋一郎・森田之夫・菅野義信 (1968) ヒト胃粘膜上皮の細胞相互間連絡。広大医誌 **16**, 625-626
- 5) Aull, F. (1967) Measurement of the electrical potential difference across the membrane of the Ehrlich mouse ascites tumor cell. *J. Cell. Physiol.* **69**, 21-32
- 6) Aull, F. and Hempling, H. G. (1963) Sodium flux in the Ehrlich mouse ascites tumor cell. *Am. J. Physiol.* **204**, 789-794

- 7) Barr, L., Dewey, M. M. and Berger, W. (1965) Propagation of action potentials and the structure of the nexus in cardiac muscle. *J. Gen. Physiol.* **48**, 797-823
- 8) Bayliss, W. M. and Bradford, J. R. (1885) On the electrical changes accompanying secretion. *J. Physiol.* **6**, xii-xvi
- 9) Bayliss, W. M. and Bradford, J. R. (1886) The electrical phenomena accompanying the process of secretion in the salivary glands of the dog and cat. *Proc. Roy. Soc. Lond.* **40**, 203-206
- 10) Belton, P., Kusano, K., Janizewski, L. and Grundfest, H. : personal communication.
- 11) Bennett, M. V. L., Aljure, E., Nakajima, Y. and Pappas, G. D. (1963) Electrotonic junction between teleost spinal neurons : Electrophysiology and ultrastructure. *Science* **141**, 262-264
- 12) Bennett, M. V. L., Nakajima, Y. and Pappas, G. D. (1967) Physiology and ultrastructure of electrotonic junctions. 1. Supramedullary neurons. *J. Neurophysiol.* **30**, 161-179
- 13) Burgen, A. S. V. and Emmelin, N. G. (1961) Physiology of the salivary glands. Edward Arnold Press, London
- 14) Coggeshall, R. E. and Fawcett, D. W. (1964) The fine structure of the central nervous system of the leech, *Hirudo medicinalis*. *J. Neurophysiol.* **27**, 229-289
- 15) Davson, H. (1964) A textbook of physiology. J. and A. Churchill Press, London
- 16) Davson, H. and Danielli, J. F. (1952) Permeability of natural membranes. 2nd ed., Cambridge Univ. Press, London
- 17) Dewey, M. W. and Barr, L. (1962) Intercellular connections between smooth muscle cells : the nexus. *Science* **137**, 670-672
- 18) Dewey, M. W. and Barr, L. (1964) A study of the structure and distribution of the nexus. *J. Cell Biol.* **23**, 553-585
- 19) Douglas, W. W., Kanno, T. and Sampson, S. R. (1967) Effects of acetylcholine and other medullary secretagogues and antagonists on the membrane potential of adrenal chromaffin cells : An analysis employing techniques of tissue culture. *J. Physiol.* **188**, 107-121
- 20) Douglas, W. W., Kanno, T. and Sampson, S. R. (1967) Influence of the ionic environment on the membrane potential of adrenal chromaffin cells and on the depolarizing effect of acetylcholine. *J. Physiol.* **191**, 107-122
- 21) Eccles, J. C. (1952) Neurophysiological basis of mind. Clarendon Press, Oxford
- 22) Farquhar, M. G. and Palade, G. F. (1963) Junctional complexes in various epithelia. *J. Cell Biol.* **17**, 375-412
- 23) Farquhar, M. G. and Palade, G. E. (1965) Cell junctions in amphibian skin. *J. Cell Biol.* **26**, 263-291
- 24) 藤田尚男・町野満夫・中神和義・今井雄介・山本豊 (1964) 犬の顎下腺の電子顕微鏡的研究 (1) 静止時および副交感線維短時間刺激時の終末部の微細構造 解剖学誌 **39**, 269-293
- 25) Furshpan, E. J. and Potter, D. D. (1959) Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. *J. Physiol.* **145**, 289-325
- 26) Furshpan, E. J. and Furukawa, T. (1962) Intracellular and extracellular responses of the several regions of the Mauthner cell of the goldfish. *J. Neurophysiol.* **25**, 732-771
- 27) Furukawa, T. and Furshpan, E. J. (1963) Two inhibitory mechanisms in the Mauthner neurons of goldfish. *J. Neurophysiol.* **26**, 140-176
- 28) Hama, K. (1961) Some observations on the fine structure of the giant fibers of the crayfishes (*Cambarus virilis* and *Cambarus clarkii*) with special reference to the submicroscopic organization of the synapses. *Anat. Rec.* **141**, 275-293
- 29) Hempling, H. G. (1958) Potassium and sodium movements in the Ehrlich mouse ascites tumor cell. *J. Gen. Physiol.* **41**, 565-583
- 30) Hempling, H. G. (1959) Ion movements and the maintenance of tumor cell volume. *Fed. Proc.* **18**, 67-67
- 31) Hempling, H. G. (1962) Potassium transport in the Ehrlich mouse ascites tumor cell : Evidence for autoinhibition by external potassium. *J. Cell. and Comp. Physiol.* **60**, 181-198
- 32) Hempling, H. G. and Kromphardt, H. (1965) On the permeability of ascites tumor cells to chloride. *Fed. Proc.* **24**, 709-709
- 33) Hodgkin, A. L. (1947) The membrane resistance of a non-medullated nerve fibre. *J. Physiol.* **106**, 305-318
- 34) Hodgkin, A. L. (1951) The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. *Biol. Rev.* **26**, 339-409
- 35) Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1939) Action potentials recorded from inside a nerve fibres. *Nature* **144**, 710-710
- 36) Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1945) Resting and action potentials in a single nerve fibre. *J. Physiol.* **104**, 176-195
- 37) Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1952) Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* **116**, 449-472
- 38) Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1952) The components of membrane conductance in the

- giant axon of *Loligo*. J. Physiol. **116**, 473-496
- 39) Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1952) The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo*. J. Physiol. **116**, 497-506
- 40) Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol. **117**, 500-544
- 41) Hodgkin, A. L., Huxley, A. F. and Katz, B. (1952) Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo*. J. Physiol. **116**, 424-448
- 42) Hodgkin, A. L. and Rushton, W. A. H. (1946) The electrical constants of a crustacean nerve fibre. Proc. Roy. Soc. B. **133**, 444-479
- 43) 今井雄介 (1965) 犬顎下腺分泌に関する研究 第1報 顎下腺分泌とその電気生理 日本生理誌 **27**, 304-312
- 44) Ito, M. (1957) The electrical activity of spinal ganglion cells investigated with intracellular micro-electrodes. Jap. J. Physiol. **7**, 297-323
- 45) Johnstone, B. M. (1959) Micro-electrode penetration of ascites tumor cells. Nature **183**, 411-411
- 46) 菅野富夫 (1968) 副腎髄質ホルモン分泌の機構 医学のあゆみ **64**, 113-120
- 47) Kanno, Y. and Loewenstein, W. R. (1964) Low-resistance coupling between gland cells. Some observations on intercellular contact membranes and intercellular space. Nature **201**, 194-195
- 48) Kanno, Y. and Loewenstein, W. R. (1964) Intercellular diffusion. Science **143**, 959-960
- 49) Kanno, Y. and Loewenstein, W. R. (1966) Cell-to-cell passage of large molecules. Nature **212**, 629-630
- 50) Kanno, Y., Ashman, R. F. and Loewenstein, W. R. (1965) Nucleus and cell membrane conductance in marine oocytes. Exptl. Cell Res. **39**, 184-189
- 51) Kanno, Y., Jamakosmonowiz, A. and Loewenstein, W. R. : in preparation
- 52) Kanno, Y., Socolar, S. J. and Loewenstein, W. R. : unpublished data
- 53) 菅野義信 (1964) 細胞内核膜の電気的性質 科学 **34**, 369-373
- 54) 菅野義信 (1964) 微小電極法 メディカルカルチュア **6**, 816-821
- 55) 菅野義信 (1965) 上皮細胞の低抵抗性結合について その1, ショウジョウバエの唾液腺細胞 日本生理誌 **27**, 37-38
- 56) 菅野義信 (1966) 肝癌細胞間の低抵抗性結合の欠如 日本生理誌 **28**, 566-567
- 57) 菅野義信 (1966) 肝癌細胞の電気生理 生体の科学 **17**, 191-198
- 58) 菅野義信 (1967) 上皮細胞系細胞間接面膜の透過性 におよぼす Ca^{++} の影響 日本生理誌 **29**, 176-176
- 59) 菅野義信 (1967) 唾液腺細胞の生理学的特質 口科誌 **16**, 516-516
- 60) 菅野義信 (1967) 唾液腺細胞の比較電気生理学 日耳鼻 **70**, 1950-1950
- 61) 菅野義信 (1967) 細胞間膜接合部の性質 医学のあゆみ **63**, 761-770
- 62) 菅野義信・森田之大・松井洋一郎 (1967) 消化器系粘膜上皮の細胞間結合 日本生理誌 **29**, 400-400
- 63) 菅野義信・森田之大・松井洋一郎 (1967) イモリ消化器系粘膜上皮細胞接面膜の透過性 動物学誌 **76**, 173-173
- 64) 菅野義信・森田之大・松井洋一郎 (1967) 消化器系粘膜上皮の電気生理 歯基礎誌 **9**, 11-11
- 65) 菅野義信・森田之大・松井洋一郎 : 未発表
- 66) 菅野義信・森田之大・松井洋一郎・浅野美代子 (1968) ヒトの正常胃粘膜上皮細胞と腫瘍細胞の電気的性質 日本生理誌 印刷中
- 67) 勝木保次・菅野義信 (1964) 神経生理学の最尖端—日米科学協力神経生理学セミナー— 医学のあゆみ **50**, 163-167
- 68) 勝木保次・菅野義信 (1967) X微小電極法 A. 総論 中枢神経実験法 生理学編 時実利彦・大熊輝雄・編 医学書院 第1版 141-155
- 69) Katz, B. (1948) The electrical properties of the muscle membrane. Proc. Roy. Soc. B. **135**, 506-534
- 70) Kobayashi, M., Nagai, T. and Prosser, C. L. (1966) Electrical interaction between muscle layers of cat intestine. Am. J. Physiol. **211**, 1281-1292
- 71) Kobayashi, M., Prosser, C. L. and Nagai, T. (1967) Electrical properties of intestinal muscle as measured intracellularly and extracellularly. Am. J. Physiol. **213**, 275-286
- 72) Kuffler, S. W. and Potter, D. D. (1964) Glia in the leech central nervous system : Physiological properties and neuron-glia relationships. J. Neurophysiol. **27**, 290-320
- 73) Langenskiöld, A. (1941) Component potentials of the submaxillary gland electrogram. Acta Physiol. Scand. Suppl. **6**, 1-109
- 74) Lash, A. F., Falk, G. and Gerard, R. W. (1955) A microelectrode method in the diagnosis of the cervix and endometrium. Am. J. Obst. and Gynec. **70**, 354-358
- 75) Lehmkuhl, D. and Sperelakis, N. (1963) Transmembrane potentials of trypsin-dispersed chick heart cells cultured in vitro. Am. J. Physiol. **205**, 1213-1220
- 76) Lehmkuhl, D. and Sperelakis, N. (1965) Electrotonic spread of current in cultured chick heart cells. J. Cell and Comp. Physiol. **66**, 119-133
- 77) Ling, G. and Gerard, R. W. (1949) The normal

- membrane potential of frog sartorius fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.* **34**, 383-396
- 78) Lockwood, A. P. M. (1961) "Ringer" solutions and some notes on the physiological basis of their ionic compositions. *Comp. Biochem. and Physiol.* **2**, 241-289
 - 79) Loewenstein, W. R. (1966) Permeability of membrane junction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **137**, 441-472
 - 80) Loewenstein, W. R. and Kanno, Y. (1963) The electrical conductance and potential across the membrane of some cell nuclei. *J. Cell Biol.* **16**, 421-425
 - 81) Loewenstein, W. R. and Kanno, Y. (1963) Some electrical properties of a nuclear membrane examined with a microelectrode. *J. Gen. Physiol.* **46**, 1123-1140
 - 82) Loewenstein, W. R. and Kanno, Y. (1964) Studies on an epithelial (gland) cell junction. I. Modification of surface membrane permeability. *J. Cell Biol.* **22**, 565-586
 - 83) Loewenstein, W. R. and Kanno, Y. (1966) Inter-cellular communication and the control of tissue growth: Lack of communication between cancer cells. *Nature* **209**, 1248-1249
 - 84) Loewenstein, W. R. and Kanno, Y. (1967) Inter-cellular communication and tissue growth. I. Cancerous growth. *J. Cell Biol.* **33**, 225-234
 - 85) Loewenstein, W. R., Nakas, M. and Socolar, S. J. (1967) Junctional membrane uncoupling: Permeability transformations at a cell membrane junction. *J. Gen. Physiol.* **50**, 1865-1892
 - 86) Loewenstein, W. R. and Penn, R. D. (1967) Inter-cellular communication and tissue growth. II. Tissue regeneration. *J. Cell Biol.* **33**, 235-242
 - 87) Loewenstein, W. R., Socolar, S. J., Higashino, S., Kanno, Y. and Davidson, N. (1965) Intercellular communication: Renal, urinary bladder, sensory and salivary gland cells. *Science* **149**, 295-298
 - 88) Lundberg, A. (1955) The electrophysiology of the submaxillary gland of the cat. *Acta Physiol. Scand.* **35**, 1-25
 - 89) Lundberg, A. (1956) Secretory potentials and secretion in the sublingual gland of the cat. *Nature* **177**, 1080-1081
 - 90) Lundberg, A. (1957) Secretory potentials in the sublingual gland of the cat. *Acta Physiol. Scand.* **40**, 21-34
 - 91) Lundberg, A. (1957) The mechanism of establishment of secretory potentials in sublingual gland cells. *Acta Physiol. Scand.* **40**, 35-58
 - 92) Lundberg, A. (1957) An ionic dependence of secretion and secretory potentials in the perfused sublingual gland. *Acta Physiol. Scand.* **40**, 101-112
 - 93) Lundberg, A. (1958) Electrophysiology of salivary glands. *Rhysiol. Rev.* **38**, 21-40
 - 94) Maizels, M., Remington, M. and Truscove, R. (1958) Data for the calculation of the rate coefficients of sodium transfer by mouse ascites tumour cells. *J. Physiol.* **140**, 48-60
 - 95) Maizels, M., Remington, M. and Truscove, R. (1958) The effects of certain physical factors and of the cardiac glycosides on sodium transfer by mouse ascites tumour cells. *J. Physiol.* **140**, 61-79
 - 96) Maizels, M., Remington, M. and Truscove, R. (1958) Metabolism and sodium transfer of mouse ascites tumour cells. *J. Physiol.* **140**, 80-93
 - 97) 松井洋一郎・森田之大・菅野義信 (1967) 口腔消化器系粘膜上皮の細胞接面膜の電気生理学的特質 広大医誌 **15**, 515-515
 - 98) 森岡 久 (1962) 悪性腫瘍細胞の静止電位に関する研究 第1編 犬の胃粘膜細胞の静止電位 山口医学 **11**, 169-183
 - 99) 森岡 久 (1962) 悪性腫瘍細胞の静止電位に関する研究 第2編 人の胃粘膜細胞ならびに胃癌細胞の静止電位 山口医学 **11**, 183-203
 - 100) 森岡 久・田中聖児・北村健二郎 (1966) マーフィリンの皮膚癌細胞の静止電位におよぼす影響 山口医学 **15**, 268-271
 - 101) 森田之大・松井洋一郎・菅野義信 (1968) 消化器系粘膜上皮の生理学的研究 歯基礎誌 **9**, 87-95
 - 102) Muir, A. R. (1957) An electron microscope study of the embryology of the intercalated disc in the heart of the rabbit. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **3**, 193-202
 - 103) Muir, A. R. (1957) Observations on the fine structure of the Purkinje fibres in the ventricles of the sheep's heart. *J. Anat.* **91**, 251-258
 - 104) 中村 勉・鳴海弘憲 (1967) 弘前肉腫細胞の膜電位について 日本生理誌 **29**, 399-399
 - 105) Nakas, M., Higashino, S. and Loewenstein, W. R. (1966) Uncoupling of an epithelial cell membrane junction by calcium-ion removal. *Science* **151**, 89-91
 - 106) 橋橋敏夫 (1964) 興奮性膜とカルシウム 生物物理 **4**, 101-114
 - 107) Nastuk, W. L. and Hodgkin, A. L. (1950) The electrical activity of single muscle fiber. *J. Cell. Comp. Physiol.* **35**, 39-73
 - 108) Penn, R. D. (1966) Ionic communication between liver cells. *J. Cell Biol.* **29**, 171-174
 - 109) Penn, R. D. and Loewenstein, W. R. (1966) Uucoupling of a nerve cell membrane junction by calcium-ion removal. *Science* **151**, 88-89
 - 110) Robertson, J. D. (1955) The ultrastructure of adult vertebrate peripheral myelinated fibers in

- relation to myelinogenesis. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **1**, 271-278
- 111) Robertson, J. D. (1957) New observations on the ultrastructure of the membranes of frog peripheral nerve fibers. *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.* **3**, 1043-1047
- 112) Robertson, J. D. (1961) Ultrastructure of excitable membranes and the crayfish median-giant synapse. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **94**, 339-389
- 113) Robertson, J. D. (1963) Current problems of unit membrane structure and substructure. In *intracellular membraneous structure*. ed. by Seno and Cowdry, Japan Society for Cell Biology, Okayama, Japan
- 114) Robertson, J. D., Bodenheimer, T. S. and Stage, D. E. (1963) The ultrastructure of Mauthner cell synapses and nodes in goldfish brains. *J. Cell Biol.* **19**, 159-199
- 115) 佐藤昌康 (1956) 神経の興奮と伝導 —— ホジキンの Na 説 —— 初版 金芳堂 京都
- 116) Sekiya, T. (1962) Studies on the membrane potential of Ehrlich ascites tumor cell. *Gann* **53**, 41-57
- 117) Sjöstrand, F. S. and Andersson, E. (1954) Electron microscopy of the intercalated discs of cardiac muscle tissue. *Experientia* **10**, 369-370
- 118) Sjöstrand, F. S., Andersson, E. and Dewey, M. M. (1958) The ultrastructure of the intercalated discs of frog, mouse and guinea pig cardiac muscle. *J. Ultrastr. Res.* **1**, 271-287
- 119) Sperelakis, N. and Lehmkuhl, D. (1964) Effect of current on transmembrane potentials in cultured chick heart cells. *J. Gen. Physiol.* **47**, 895-927
- 120) Sperelakis, N. and Tarr, M. (1965) Weak electrotonic interaction between neighboring visceral smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* **208**, 737-747
- 121) Svaetichin, G. (1956) Spectral response curves from single cones. *Acta Physiol. Scand.* **39**, Suppl. 134; 17-36
- 122) Tanaka, S. (1965) Membrane potential of the malignant tumor cell. *Bull. Yamaguchi med. School* **12**, 21-43
- 123) Tokuoka, S. and Morioka, H. (1957) The membrane potential of the human cancer and related cells. (I) *Gann* **48**, 353-354
- 124) Tokuoka, S., Morioka, H. and Tanaka, S. (1960) The membrane potential of the human cancer and related cells. (II) Effect of several antitumor substances on the membrane potentials of the E N Sarcoma cells. *Gann* **51**, Suppl. 30-31
- 125) Usui, T. (1967) Electron microscopic study on the ascites hepatoma — comparative observations. *Gann* **58**, 229-236
- 126) Van Breemen, V. L. (1953) Intercalated discs in heart muscle studied with the electron microscope. *Anat. Rec.* **117**, 49-56
- 127) Van Harreveld, A. (1930) Das elektrogramm und die widerstandveränderungen der unterkiefer-speicheldrüse. *Arch. néerl. Physiol.* **15**, 23
- 128) Watanabe, A. and Grundfest, H. (1961) Impulse propagation at the septal and commissural junctions of crayfish lateral giant axons. *J. Gen. Physiol.* **45**, 267-308
- 129) Weidmann, S. (1965) The functional significance of the intercalated disks. *Electrophysiology of the heart*, Taccardi and Machetti, eds. 149-152 Pergamon Press, Oxford England
- 130) Weidmann, S. (1966) The diffusion of radio-potassium across intercalated disks of mammalian cardiac muscle. *J. Physiol.* **187**, 323-343
- 131) Wiener, J., Spiro, D. and Loewenstein, W. R. (1964) Studies on an epithelial (gland) cell junction. II. Surface structure. *J. Cell Biol.* **22**, 587-598
- 132) 山田英智 (1967) III. 2. 9. 細胞相互の連絡 細胞生物学 中原和郎・藤井 隆・三浦義彰編 朝倉書店 東京

[原著] 実験的脳血腫による線溶亢進と
その統御 612. 822. 6 : 612. 015 : 612. 821. 1

美 原 恒 *

Fibrinolytic activity of cerebro-spinal fluid and the development of artificial haematomas in dogs

Hisashi Mihara (*First Department of Physiology, Kobe University School of Medicine*)

As a "model" of natural bleeding, artificial haematomas (and paraffin masses) were produced within dog brain-tissue. In 17 dogs fresh blood (1.5-2.0 ml), withdrawn from one paw without anticoagulant, was injected intracerebrally through a hole in the temporal bone. Trans-form aminomethylcyclohexane carboxylic acid (t-AMCHA) was administered to 4 such animals. In untreated dogs, individuals showing accelerated CSF (cerebrospinal fluid) fibrinolytic activity died relatively rapidly; individuals showing slight or no increase survived longer. Generally peripheral blood activities did not exhibit such marked changes. Autopsies on blood-injected dogs revealed wide tissue devastation where there was rapid increase in CSF activity; but usually little tissue damage with slight or no increase. t-AMCHA administration clearly lengthened survival time in blood- and paraffin-injected dogs.

In normal animals "bound-form" (2 M KCl extractable), but no "free-form" (0.15 M KCl extractable), activator was found within the brain-tissue. However, "free-form" activator was detectable around the haematoma in cases of death after more than 10 hours. It is concluded that increased CSF activity contributes in haematoma development and earlier death; and that release of "free-form" activator from around the haematoma contributes in this acceleration of fibrinolytic activity. [J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 431-441]

I. 緒 言

1962年 Mihara et al.¹⁾ は脳出血患者の発作直後から経時的に循環血中の線溶活性を測定し、循環血中の線溶活性の亢進は患者の予後に見逃しえない影響を与えることを報告した。すなわち、脳出血の発作後、循環血が高い線溶活性を持続する場合には死亡率が高く、剖検所見でも脳内に大きな出血巣が見出された。これに反し、発作後一過性の線溶亢進を来たしても、その後かなり速やかに線溶活性が低下していく例、またははじめから余り高い線溶活性を示さない例では予後が一般に良好で、例え死亡した例でも剖検所見では大きな出血巣は見られなかった。しかし、これら臨床的研究では病状が多岐にわたり、脳出血の進展の機作を線溶系と関連づけて理解することは容易ではなかった。

本報告においては、イヌを用いて実験的に脳内血腫をつくり、脳脊髄液(髄液)および循環血の線溶系の変動を測定し、実験的脳内血腫における線溶系の変動の病態生理学的意義の解明を試みた。さらに、脳の組織より組織アクチベーターを抽出し、脳内血腫による脳組織アクチベーターの変動についても追究した。

その結果、1) 脳内血腫の進展、被実験動物の死亡率に対し髄液の線溶活性の亢進が重大な影響をもつこと、すなわち、髄液の線溶が亢進すると実験動物が早期に死亡すること、2) この際の髄液の線溶活性の上昇は、血腫周辺の組織アクチベーターの上昇と放出によるとみなされること、さらに、3) この線溶活性の亢進を抗プラスミン物質 trans-form の aminomethylcyclohexane-carboxylic acid (t-AMCHA)²⁾ の投与で抑制することによって、致死率を明らかに改善することを見出したので、ここに報告する。

尚、本報告で扱う脳内血腫は血管破綻による

* 神戸大学医学部生理学第1講座

[昭和43年2月29日受付]

脳出血のモデル実験であることをあらかじめ附記しておく。

II. 実験方法

A. 実験動物

体重 8~12 kg の雑種の健康なイヌを 5~10 日間、本学動物舎にて、イヌ用固形飼料を与えて飼育管理後、実験に供した。フィラリアの試験はあらかじめ本学中央実験動物室で行なわれた。

B. 脳血腫作成法

ペントバルビタールソーダ (Abbott 社 Nembutal) 約 30 mg/kg を静脈内注射し、麻酔を行なった。麻酔後、対照として、無菌注射器により後頭下腔穿刺によって髄液を採取 (以下の髄液採取も同様の方法で行なった)、また血液は前肢の静脈、あるいは股静脈より採血した。つづいて金谷、光野らの方法³⁾にしたがい、外耳孔より前方約 2 cm、同部より上方約 5 cm の部に骨穿孔を行なった。すなわち、附近の脱毛、消毒後、皮膚に小切開を加え、側頭骨の一部を露出し、ドリルで直径約 2 mm の小孔を開ける。つぎに静脈より約 1.5~2.0 ml の血液を抗凝固剤を加えることなく採血し、採血後先端を丸くした注射針に変え、前述の小孔より、頭蓋正中線に直角に、水平線に対しては約 15° 下方へ骨表面より約 1.5 cm 刺入し、そのまま注射

器を固持して、上記血液を 1.5~2.0 ml 注入した。注入後は注射針をすみやかに抜去、頭蓋骨の小孔を骨ろうで密封し、さらに切開創を縫合した。上記の操作はもちろんすべて無菌的に行ない、第二日以後生存したイヌについては、血液加寒天培地で髄液を培養し、感染の有無を検討した。

また、一群の動物では、血液の代りに、パラフィンを加熱溶解し、冷却して固化する寸前に (約 52°C)、上記の方法により脳内に注入し、その影響を検討した。血腫またはパラフィン塊が脳内に注入されていることは死後剖検により確認した。

C. 線溶活性測定法

線溶活性の測定は標準および加熱フィブリン平板法を用いた。フィブリン平板は Astrup and Müllertz の標準平板法⁴⁾を改良した大柴の方法⁵⁾にしたがった。フィブリノーゲン (Armour 社製 Cohn Fraction 1) およびトロンビン (持田製 菓 KK ウシトロンビン) をそれぞれ硼酸緩衝液 (pH 7.8) で溶解し、これらを用いて標準フィブリン平板を作成した。上記の標準平板を 85°C で 30 分加熱し、これを加熱フィブリン平板として用いた。

1. 髄液の線溶活性

血液の線溶活性測定法に準じた。すなわち、脳血腫作成後、経時的に後頭下腔穿刺により約 1.0~1.5 ml の髄液を採取、一部はそのまま線溶活性を測定し、残部はユーグロブリン分画の線溶活性の測定に用いた。髄液のユーグロブリン分画作成法は血液のユーグロブリン分画のそれに準じた。

尚、髄液のユーグロブリン分画をうるための等電沈澱の pH 条件について、以下の吟味を行なった。すなわち、別に採取した髄液を 6 本の試験管に分注、純水で 20 倍に稀釈後、各試験管を 1% 醋酸にてそれぞれ pH 4.8, 5.0, 5.2, 5.4, 5.6 および 5.8 に調整、冷凍遠心沈澱器 (0°C, 3000 r. p. m., 10 分) で遠沈し、各沈渣を硼酸緩衝液 (pH 7.4) で溶解後、その線溶活性を測定した。その結果、Fig. 1 の如く、pH 5.2 附近で

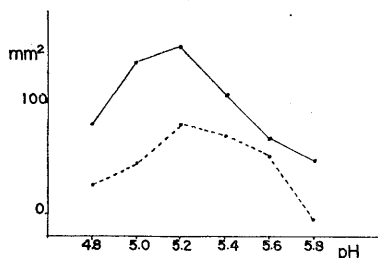


Fig. 1. Fibrinolytic activity of CSF fractions precipitated at various pHs. Ordinate indicates fibrinolytic activity. Abscissa indicates pH. Solid line: curve for fibrinolytic activity obtained by the standard plate method. Broken line: curve for fibrinolytic activity obtained by the heated plate method.

最高の活性値をえたので、以下、pH 5.2 で遠沈してえたものを髄液のユーグロブリン線溶活性測定のための標本とした。

2. 血液の線溶活性

クエン酸ソーダ 3.8% 溶液 0.5 ml を入れた注射器により静脈から 4.5 ml の血液を採取、ただちに冷凍遠沈 (0°C, 3000 r. p. m. 10分) により血漿を分離、つづいてその一部よりユーグロブリン分画をえ、血漿およびユーグロブリン分画の線溶活性の測定を行なった。

D. 組織アクチベーターの抽出法

0.15 M KCl 溶液および 2.0 M KCl 溶液によって抽出される、いわゆる遊離型アクチベーターと結合型アクチベーター (Miura⁶⁾, Sugiyama and Okamoto⁷⁾) のそれぞれに分離、抽出を行なった。すなわち、剔出した新鮮脳標本からできるだけ軟脳膜を除去し、生理的食塩水でくり返し血液を洗った後、500 mg の脳組織をとり、これに氷冷した10倍量の 0.15 M KCl 溶液を加え、Janke and Kunkel 社製の Ultra-Turrax で10秒間組織を磨碎、つづいて1時間 0°C に放置、その後 3300 G で低温遠沈分離 (0°C) を行ない、その上清を遊離アクチベーター抽出液とした。この沈渣には再び 0.15 M KCl 溶液を 5 ml 加え、ガラスホモジェナイザーで充分攪拌後、0°C に1時間放置、再び 3300 G で低温遠沈分離 (0°C) を行ない、この上清にはすでに 0.15 M KCl 溶液で抽出されるアクチベーターは検出できないことを必ず確認した。つづいて、この沈渣に氷冷した 2.0 M KCl 溶液を 5.0 ml 加え、ガラスホモジェナイザーで充分攪拌し、再び 0°C で1時間放置、その後再び 3300 G で低温遠沈分離を行ない、この上清を結合型アクチベーター抽出液とした。

尚、0.15 M KCl 抽出液を 60,000 G で遠沈分離を行ない、細胞顆粒を除いた上清のアクチベーター活性値を測定し、本実験で用いた方法と活性値に差がないことをあらかじめ確認した。また組織重量と抽出液の比は10倍量が脳実質のアクチベーター抽出に最も適当であることもあらかじめ確認した。

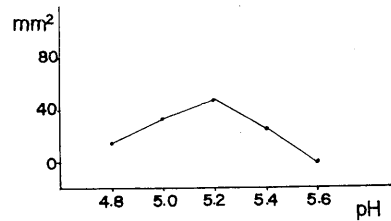


Fig. 2. Fibrinolytic activity of (0.15 M KCl) brain tissue extract precipitated at various pHs. Ordinate indicates fibrinolytic activity as measured by the standard plate method. Abscissa indicates pH of precipitating solution of tissue extracts.

0.15 M KCl 抽出によりえられた遊離型アクチベーター抽出液に20倍量の純水を加え、1% 醋酸溶液で pH 5.2 に調製、低温遠沈分離 (0°C 3000 r. p. m. 10分) した沈渣を遊離型アクチベーターのユーグロブリン分画とした。尚あらかじめ、0.15 M KCl 抽出液を5本の試験管に分注し、純水20倍で希釈後、pH 4.8~5.6 にそれぞれ調製、えられた沈渣のアクチベーター活性を測定し、Fig. 2 に示す如く、pH 5.2 で最高の活性値がえられたことを確認した。

E. 抗プラスミン物質

t-AMCHA (第一製薬 KK) は5%水溶液として使用した。

その他、実験方法の詳細は実験成績の項に附記した。

Ⅲ. 実験成績

A. 脳内血腫作成後の髄液線溶系の変動と生存時間の相関

1. 14匹のイヌの脳実質内に血液を注入し、脳血腫をつくった。ただし脳血腫をつくる前に髄液約 1 ml を採取し対照とした。この対照髄液は何れも外観上水様透明で、ヘモグロビン量を測定しても検出できなかった。また、ユーグロブリン分画の線溶活性も全く認められなかった。尚、骨を穿孔し、針を脳内に刺入した後、血液を注入する前に採取した髄液では線溶活性が認められなかった。

2. 脳実質内に血液を注入後、各例とも10分後に髄液約 1 ml を採取、その後引き続いて

約8時間後まで1時間毎に髄液約1mlを採取し測定を行なった。ただし早期に死亡した例では、髄液採取をうちきり剖検にふした。翌日尚生存したものについてはさらに髄液を採取、測定を行なった。

その結果、14例中8例は24時間以内に死亡した。この全例において脳血腫作成後、髄液ユーグロブリンの線溶活性は標準、加熱フィブリン平板共に明らかな上昇を示した。Fig. 3 に示す如く、約5時間以内に死亡した4例では標準フ

ィブリン平板で急激な線溶活性の上昇を示している。また、5時間以上24時間以内に死亡した4例でも、Fig. 4 に示す如く線溶活性のかなり急速な上昇がみられている（尚、髄液ユーグロブリン分画の加熱平板による測定では、標準平板法による線溶活性とほぼ同様の上昇傾向を示すが、標準平板法による値よりも低値を示した。また、髄液をそのまま測定した場合には、とくに髄液ユーグロブリンの線溶活性が高い値を示した時のみ線溶活性が認められた）。

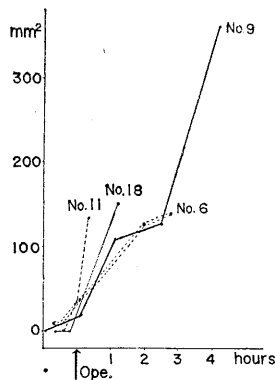


Fig. 3. Fibrinolytic activity of CSF in cases dying within five hours after haematoma production. Ordinate indicates fibrinolytic activity as measured by the standard plate method. Abscissa indicates time elapsed after blood injection into the brain.

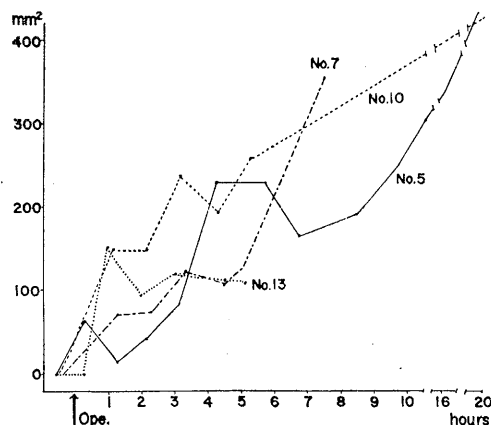


Fig. 4. Fibrinolytic activity of CSF in cases dying within five to twenty-four hours after haematoma production. Ordinate indicates fibrinolytic activity as measured by the standard plate method. Abscissa indicates time elapsed after blood injection into the brain.

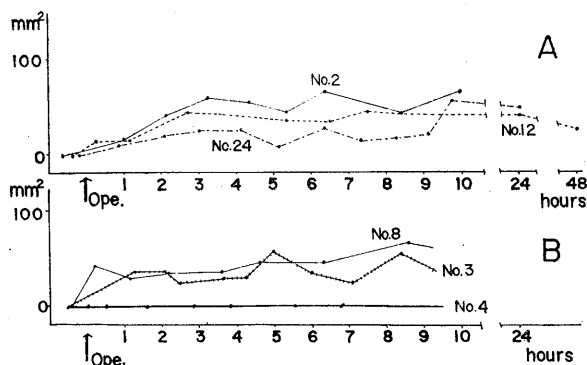


Fig. 5. Fibrinolytic activity of CSF in cases dying more than twenty-four hours after haematoma production. Ordinate indicates fibrinolytic activity as measured by the standard plate method. Abscissa indicates time elapsed after blood injection into the brain.

3. 一方、血腫の状態を観察するため22時間後に屠殺した1例と、24時間以上生存した5例は Fig. 5 A, B に示す如く、全く線溶活性の上昇を示さないか、または軽度の上昇を示しても以後低下している。

以下、各動物実験例について簡単に実験成績を記す。

a. No. 2 脳血腫作成37時間後に死亡、髄液、血液共に線溶活性の上昇は明らかではなかった。剖検により脳実質内に血液注入による軽度の障害は認められたが、凝固塊はみられなかった (Fig. 5 A)。

b. No. 3 脳血腫作成後、一般状態は良好であったが、22時間後ペントバルビタールの大量を静注し屠殺した。この例では髄液、血液とも線溶活性の上昇を認めず、剖検により脳実質内に血液注入による軽度の障害は認められたが、凝固塊はみられなかった (Fig. 5 B)。

c. No. 4 脳血腫作成後、一般状態は良好であったが、97時間後に屠殺した。髄液、血液ともに全く線溶活性の上昇を認めず、剖検により脳室内に凝固塊が見られたが、脳実質内には血液注入による軽度の障害のみで凝固塊は認められなかった (Fig. 5 B)。

d. No. 5 脳血腫作成後1時間で髄液の線溶活性が亢進を示し、2時間30分より3時間30分の間に急激な線溶活性の上昇を来とし、一度低下を示したが、再び上昇して、約21時間後に死亡。剖検により脳実質内に凝固塊を認めた。さらに凝固塊より脳室内へかけて血液が穿通している像がみられた (Fig. 4)。

e. No. 6 脳血腫作成後、髄液線溶活性の急激な上昇があり、3時間後呼吸停止、つづいて心停止を来した。剖検により脳実質内に凝固塊を認め、凝固塊より脳室内へかけて血液が穿通している像がみられた (Fig. 3)。

f. No. 7 脳血腫作成後、髄液の線溶活性は徐々に亢進し、5時間後から6時間後にかけて急激な上昇を示した。死亡を発見したのは18時間後であった。剖検では脳実質内の破壊された部分より新鮮出血を認め、その部分よ

り血液が脳室内へ穿通している像がみられた (Fig. 4)。

g. No. 8 脳血腫作成5時間後、軽度の線溶活性を示したが、その後低下した。一般状態も良好で、46時間後に屠殺した。剖検では脳実質内、脳室内共に凝固塊はなく、血液注入による軽度の障害のみを認めた (Fig. 5 B)。

h. No. 9 脳血腫作成直後より、髄液線溶活性とくに標準平板法による線溶活性が急激な上昇を示し、4時間20分後に呼吸停止、つづいて心停止を来した。剖検により脳実質内に半流動性の凝固塊を認めた (Fig. 3)。

i. No. 10 脳血腫作成後、髄液の線溶活性はかなり急激に上昇し、24時間後呼吸停止。人工呼吸を行ない乍ら採取した髄液は非常に高い線溶活性を示していた。その後、心停止を来した。剖検では脳実質に凝固塊を認めなかったが、脳実質のかなり広汎な破壊を認めた (Fig. 4)。

j. No. 11 脳血腫作成10分後に採取した髄液は線溶活性の急激な上昇を示した。手術後12分で呼吸停止し、死亡。剖検では脳実質内に脳細片を含む比較的大きな血腫を認めた (Fig. 3)。

k. No. 12 脳血腫作成後、髄液、血液ともに線溶活性の上昇を示さず、50時間後死亡。縫合創より大量の膿汁を排泄していた。剖検では脳は軟化しており、血液注入部位は確認されたが、血腫は認められなかった (Fig. 5 A)。

l. No. 13 脳血腫作成後、髄液の線溶活性は急激に上昇し、5時間後呼吸停止、つづいて心停止を来した。剖検では脳実質内に凝固塊を認めたが、凝固塊より脳室内へかけての血液の穿通している像はみられなかった (Fig. 4)。

m. No. 18 脳血腫作成後、急激な髄液の線溶活性の上昇を示し、1時間30分後に呼吸停止、つづいて心停止を来した。剖検では脳実質内に比較的大きな脳実質の細片と混合した凝固塊を認めたが、凝固塊より脳室内への血液の穿通している像はみられなかった (Fig. 3)。

n. No. 24 脳血腫作成8時間後まで髄

液、血液線溶活性ともに殆んど上昇を示さず、約22時間後の検索で髄液、血液とともに僅かながら上昇の傾向を示した。33時間後では22時間後に測定した値と同じであった。その後8時間経過した後に死亡しているのを発見した。剖検では脳実質の下部、および脳室内に凝固塊を認めた (Fig. 5 A)。

以上の結果を要約して表1に示した。すなわち14例中、8例は脳実質内に血腫をつくることにより、髄液の線溶活性の亢進を示し、何れも24時間以内に死亡した。

しかし、他の6例は髄液の線溶活性の亢進を示さず、22時間に屠殺した1例を除き、24時間以内に死亡した例はない。

Table 1.

No. of experimental animals	Survival hours	Fibrinolytic activity of cerebro-spinal fluid
No. 2	37	little increase
No. 3	22 (killed by barbiturate)	little increase
No. 4	97 (killed by barbiturate)	no increase
No. 5	21	increase
No. 6	2 1/2	increase
No. 7	18	increase
No. 8	46 (killed by barbiturate)	slight & transitory increase
No. 9	4 1/3	acute increase
No. 10	24	increase
No. 11	1/5	acute increase
No. 12	50	little increase
No. 13	5 1/2	increase
No. 18	1 1/2	acute increase
No. 24	33	little increase

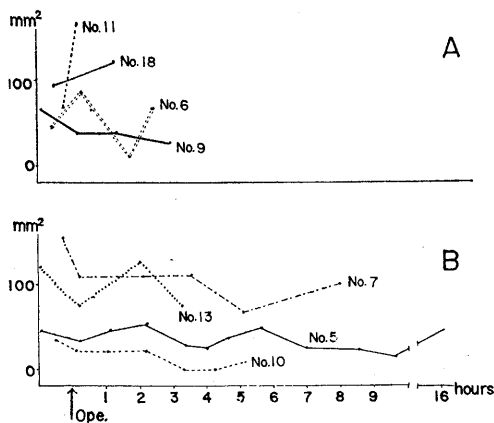


Fig. 6. Fibrinolytic activity of peripheral blood in cases dying within twenty-four hours after haematoma production. Ordinates indicate fibrinolytic activity as measured by the standard plate method. Abscissae indicate time elapsed after blood injection into the brain. Upper graph: cases dying within five hours. Lower graph: cases dying within five to twenty-four hours.

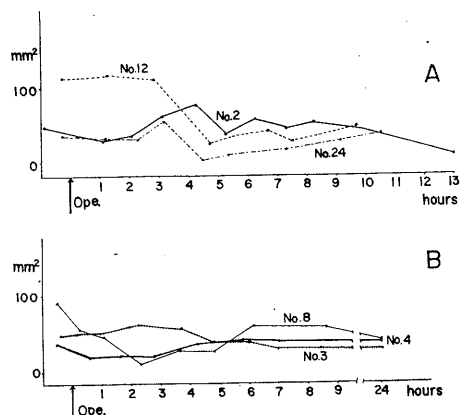


Fig. 7. Fibrinolytic activity of peripheral blood in cases dying more than twenty-four hours after haematoma production. Ordinates indicate fibrinolytic activity as measured by the standard plate method. Abscissae indicate time elapsed after blood injection into the brain.

この成績は髄液の線溶活性の異常亢進が脳血腫犬の死亡に密接な関係を有することを強く示唆している。

B. 脳血腫作成後の循環血線溶系の変動

実験成績Aの14例において、12分間で死亡した No. 11 を除いて、循環血の線溶活性がとくに顕著な亢進を示した例はなく (Fig. 6 A, B, Fig. 7 A, B), 例え髄液の線溶活性がみられた例でも、循環血の線溶活性はとくにみるべき変動を示さなかった。前述の実験動物 No. 11 のみは脳血腫作成手術10分後に採血した血液の線溶活性が、術前のそれと比較して急速な亢進を示した。

すなわち、脳内におきた異常は髄液には顕著な変動として顕れるが、循環血では直接的な影響を示さなかった。髄液の線溶活性の上昇とともに循環血の線溶活性の亢進をも来たような場合には非常に短時間に死亡した。これは1例ではあったが附記しておく。

C. 脳実質内へのパラフィン注入による髄液および血液線溶系の変動とその影響

4例のイヌについて、血液の代りにパラフィンを脳内に注入した。その結果、Fig. 8 に示す如く4例中3例の髄液の線溶活性はパラフィン注入後、標準フィブリン平板法で異常亢進を示し、3例の何れも、30分、1時間30分、5時間という短時間に死亡した。剖検では何れもパラフィン塊は脳実質内から脳室内にかけてできており、破壊された脳実質の局所から出血が認められた。髄液の線溶活性が亢進を示さなかった No. 16 の1例も8時間後に死亡した。剖検ではパラフィン塊は肉眼的には脳実質内のみ認められ、脳室内にはみられなかった。加熱フィブリン平板による髄液の線溶活性の測定では、標準フィブリン平板法でみられたような高い線溶活性がみられなかった。

また、パラフィンの脳内への注入では循環血の線溶活性はとくに亢進を示さなかった。むしろ手術前に高かった線溶活性が低下している傾向さえみられた。

これらの成績は血液のみならず、パラフィン

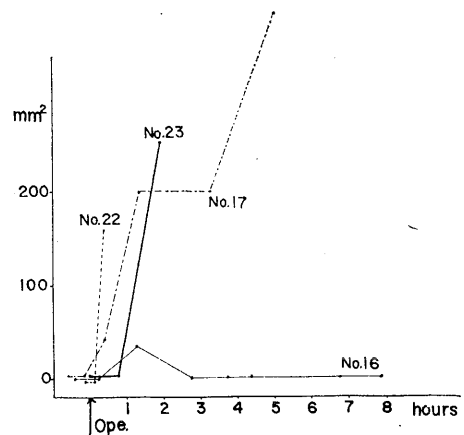


Fig. 8. Fibrinolytic activity of CSF in cases of paraffin injection. Ordinate indicates fibrinolytic activity as measured by the standard plate method. Abscissa indicates time elapsed after injection of paraffin into the brain.

による脳実質の破壊でも、髄液線溶活性の亢進を来たし、それが死につながりうることを示唆している。

D. 脳血腫作成およびパラフィン注入による髄液線溶亢進に対する t-AMCHA の影響について

4例のうち3例は前述と同様に脳内に血液を注入して血腫をつくり、1例はパラフィンを注入した。同時に抗プラスミン物質 t-AMCHA を静脈注射により投与、その影響を観察した。

すなわち、手術5分前 250 mg の t-AMCHA を静注し、術後2時間毎に 100 mg の t-AMCHA を3回静注、第2日からは朝夕各 100 mg づつ静注し、髄液および循環血の線溶系の変動を追突した。

その結果、Fig. 9, Fig. 10, Fig. 11, Fig. 12 に示す如く、血液またはパラフィンを脳内に注入後、髄液の線溶活性は上昇し、かなり高い活性値を示すが、その後急速に低下した。全例5日以上生存し、剖検のために屠殺した。

以下、各動物実験例について簡単に実験成績を記す。

1. No. 14 Fig. 9 に示す如く、脳血腫作成後急速に髄液の線溶活性は亢進し、約4時間

30分後までの測定では上昇を示している。第2日の測定では線溶活性は低下して来ており、第3日に至り初めて線溶活性は消失した。一般状態は良好で、第5日に剖検のため屠殺した。剖検では脳実質内に凝固塊を認めた。

2. No. 15 Fig. 10 に示す如く、脳血腫作成10分後には、すでに急速な髄液の線溶活性上昇を示し、その後徐々に上昇を続け、約4時間30分後にピークに達し、その後低下、第3日

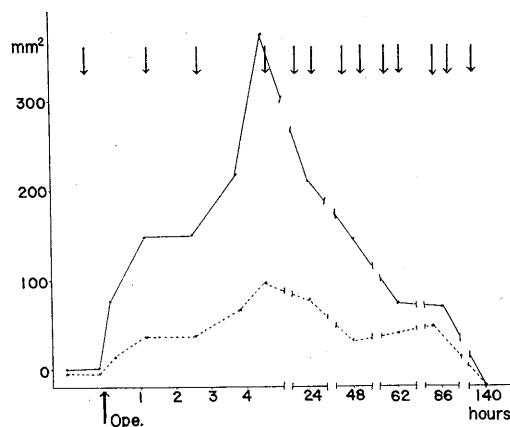


Fig. 9. Effect of t-AMCHA on fibrinolytic activity of CSF after haematoma production (Dog 14). Solid line : curve for fibrinolytic activity obtained by the standard plate method. Broken line : curve for fibrinolytic activity obtained by the heated plate method. Abscissa indicates time elapsed after blood injection into the brain. Downward arrows indicate times of injection of t-AMCHA.

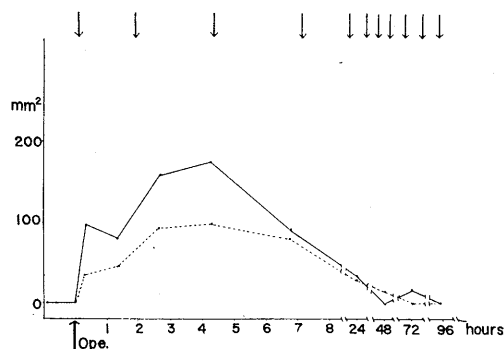


Fig. 10. Effect of t-AMCHA on fibrinolytic activity of CSF after haematoma production (Dog 15).

に線溶活性は消失し、その後も低値を示した。一般状態は良好で第6日に屠殺した。剖検により脳実質内に凝固塊を認めた。

3. No. 20 Fig. 11 に示す如く、脳血腫作成1時間後、急激な、かなり高い髄液線溶活性の亢進を示したが、2時間後の測定ではすでに低下を示し、その後も次第に低下した。第2日、術後24時間には線溶活性は消失していた。その後、一般状態もよく、生存をつづけたが、

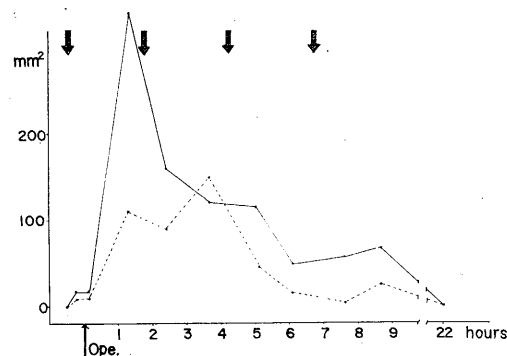


Fig. 11. Effect of t-AMCHA on fibrinolytic activity of CSF after haematoma production (Dog 20).

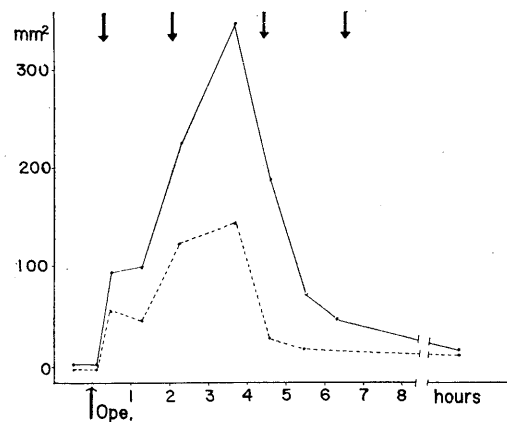


Fig. 12. Effect of t-AMCHA on fibrinolytic activity of CSF after paraffin injection. Solid line : curve for fibrinolytic activity obtained by the standard plate method. Broken line : curve for fibrinolytic activity obtained by the heated plate method. Abscissa indicates time elapsed after injection of paraffin into the brain. Downward arrows indicate times of injection of t-AMCHA.

第7日に屠殺した。剖検では脳実質内および脳室内に半流動性の凝固塊を認めた。

4. No. 21 Fig. 12 に示す如く、パラフィン注入後、髄液の線溶活性は亢進を示し、約3時間30分後ピークに達し、その後急速に低下した。第2日の測定では線溶活性はほとんど消失した。その後も一般状態は良好、第7日に屠殺した。剖検ではパラフィン塊が脳実質内および脳室内に見出された。

以上の結果を要約してみると、脳血腫ができて、前述の如く髄液の線溶活性の亢進がおこっても、t-AMCHA の充分量を投与することにより、それが抑制され、しかも全例ともに5日間以上生存しつづけたことになる。この事実は抗プラスミン物質の投与が脳血腫作成による致死率を明らかに改善することを示している。

E. 脳血腫作成後の血腫周辺組織のアクチベーター活性の変動

正常のイヌの脳実質組織には、0.15M KCl 溶液で抽出されるいわゆる遊離型アクチベーターは見出されず、2.0M KCl 溶液で抽出される、いわゆる結合型アクチベーターのみ発見された。

脳血腫作成後、死亡または屠殺したイヌについて、血腫周辺部の脳実質組織をとり、その0.15 M KCl 抽出液のユークロブリン分画をえて、遊離型アクチベーターの活性値を測定した。

その結果、Fig. 13 に示す如く、血腫作成後10時間以内には遊離型アクチベーターが抽出できた例はなかったが、約20時間後に遊離型アクチベーター活性の増加を示す例が多くなって来ており、第3日以後は遊離型アクチベーター活性が低下して来る傾向を示した。

この事実は、本来正常の脳実質組織には見出されなかった遊離型アクチベーターが、血腫をつくることにより、その周辺部組織に出現して来るという機作を示唆する、この脳血腫周辺に出現する遊離型アクチベーターが髄液中に放出

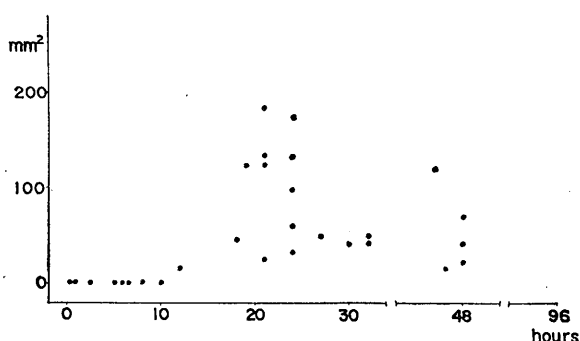


Fig. 13. "Free-form" activator activity of brain tissue surrounding the haematoma. Ordinate indicates fibrinolytic activity of extract obtained with 0.15 M KCl, as measured by the standard plate method. Abscissa indicates time elapsed after blood injection into the brain.

され、髄液の線溶亢進を促していると考えられることは最も合理的な説明であろう。

IV. 考 察

本報告において、著者は、イヌの脳実質内に実験的に血腫またはパラフィン塊をつくった場合、髄液内の線溶活性が亢進した例では、かなりすみやかに死に至るが、亢進を示さない例では比較的長時間生存をつづけることを明らかにした。この血腫の作成により髄液の線溶活性の亢進を示す場合と示さない場合の相違について考察すると、実験結果Aの各実験例の剖検結果の中で述べた如く、髄液の急速な線溶活性上昇を示した例では、脳実質内に凝固塊が見出されるか、あるいは脳組織の広汎な破壊が認められ、また血腫が脳室内に穿通していた。これに対し、長時間生存したイヌの剖検では、脳実質内に血腫が確認できず、唯注射針の刺入部と血液が注入されたためと思われる脳組織の軽度の破壊が認められたにすぎない。この事実から、比較的大きな血腫の存在と、脳実質組織の比較的大きな破壊が、髄液の線溶活性の亢進を来す要因となったと考えられる。

さらに、この脳血腫または脳実質の破壊によって惹き起こされたと思われる髄液の線溶活性の亢進を、抗プラスミン物質によって抑制することにより、何故致死率が明らかに改善しえた

かという問題は、脳内に急激に血塊またはパラフィン塊の作成されたことによるイヌの急激死の発生機作に線溶酵素系が重要な役割を演じていると考えると、一応合理的に説明される。

この髄液の線溶酵素の活性亢進は、既述の実験成績から示唆される如く、血腫周辺部の遊離型アクチベーターの出現とその放出によって、次のように説明されよう。すなわち、脳組織にある結合型アクチベーターが、脳血腫がつくられることにより、ただちに髄液中に放出されて行く、このようにアクチベーターが消費されている期間には、組織を探索しても、遊離型アクチベーターが見出されないが、ある期間を経過した後、アクチベーターの消費が低下して来ると初めて組織に遊離型アクチベーターが増加してくるようになると考えれば、血腫に伴う脳組織アクチベーター（遊離型）の役割は一応説明できよう。

線溶系の活性亢進が脳血腫をつくったイヌの死因となりうる機作として、先づ考えられることは、脳実質内に急激にできた血腫による組織の破壊が、血腫局所の線溶系の活性亢進をおこし、その線溶活性が脳血腫周辺の出血をおこし、血腫の増大あるいは拡大を促進させ、遂には脳幹部の異常圧迫を来たと考えられよう。

しかし、これらの脳血腫の作成と同時に抗プラスミン物質の投与によって、線溶活性の亢進を阻止することにより、血腫の増大を防ぎ、致死率を明らかに改善できた。事実、すでに脳出血患者に対し徹底的な抗プラスミン療法を行ない、それまで救えなかった患者の救命に成功しているという（美原⁸⁾）。また、美原（博）ら⁹⁾によると脳出血患者の手術時えられた出血巣の血液線溶活性を測定し、SK 活性化法により高い値をえた患者では予後が悪かったという。

本研究では、たんに脳出血における線溶系の関与についての端緒をつかんだにすぎず、さらに基礎的な研究をつづけるべきであると考えますが、近く臨床面においても、この線に沿った研究の発展が期待されよう。

V. 結 論

1. イヌの脳内に血液を注入し脳内血腫をつくると、標準フィブリン平板法により、髄液ユーグロブリンの線溶活性亢進を来たす例は比較的短時間のうちに死亡した。髄液の線溶活性が低い例は長期間生存した。

2. 一般的にみれば、脳血腫による髄液の線溶亢進がおきても、循環血の線溶活性は髄液における程著明な変動を示さなかった。しかし、循環血の線溶活性も亢進した1例では十数分後に死亡した。

3. 血液の代りにパラフィンを注入して、脳内にパラフィン塊をつくった場合も、血腫をつくった場合と同じく、髄液の線溶活性の亢進を来した例は短時間のうちに死亡した。

4. 脳内の血腫またはパラフィン塊の作成によって亢進する線溶活性を、t-AMCHA の投与により抑制すれば、明らかに致死率を改善することができた。

5. 正常のイヌの脳実質組織には 2.0M KCl 溶液によって抽出されるいわゆる結合型アクチベーターは存在するが、0.15 M KCl 溶液によって抽出される、いわゆる遊離型アクチベーターは見出されなかった。

6. 脳血腫周辺の脳実質組織においては、血腫作成後十数時間で遊離型アクチベーターが出現した。このアクチベーターの出現は髄液の線溶活性亢進の要因とみなされた。

欄筆するにあたり、御懇篤なる御指導、御校閲を賜った岡本彰祐教授に衷心より感謝致します。同時に、種々御鞭撻を戴いた金城清勝助教授、本研究を終始御援助下さった本学第1外科の藤井忠男医学士ならびに同僚に感謝の意を表します。また本学第1外科光野孝雄教授の御教示に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) Mihara, H., Takatama, M., Yoshida, Y. and Mihara, H. (1962) Studies on variation in plasmin (blood fibrinolysin) activity in cases with cerebral apoplectic disease. Keio J. Med. 11, 145-153
- 2) Okamoto, S., Sato, S., Takada, Y. and Okamoto, U. (1964) An active stereoisomer (trans-form) of

- AMCHA and its antifibrinolytic (antiplasminic) action in vitro and in vivo. *Keio J. Med.* **13**, 177-185
- 3) 金谷春之・白方誠弥・葛 泰宏・早乙女完次・野村史郎・小野勢津男・新丸精二・光野孝雄 (1966) 私共の実験的脳出血作製法 ——急性期病態生理の究明を目的として—— *医学研究* **36**, 340-344
- 4) Astrup, T. and Müllertz, S. (1952) The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochem. Biophys.* **40**, 346-351
- 5) 岡本歌子・大柴 進 (1966) 線溶現象の基礎と臨床 ——測定法—— *医学書院* 389-411
- 6) Miura, M. (1965) Activators and proactivator of the fibrinolytic system in paranasal mucous membrane of man: two forms of activator of plasminogen and proactivator responsible to streptokinase. *Kobe J. Med. Sci.* **11**, 13-21
- 7) Sugiyama, Y. and Okamoto, S. (1964) Plasminogen activator in the cytoplasmic granules of rat kidneys: Studies on extraction by isotonic and hypertonic salt solutions. *Kobe J. Med. Sci.* **10**, 257-264
- 8) 美原 博 (1966) 脳血管障害における止血. 41年度文部省研究報告集録 (医学および薬学) 自然止血機構の研究 146-147
- 9) 美原 博 (1967) 脳卒中における止血の問題 42年度文部省研究報告集録 (医学および薬学) 自然止血機構の研究 172



〔原著〕 アナログおよびデジタル計算機による人体運動の
シミュレーション 612. 766. 1 : 531. 38 : 53. 087. 9

I. 走 行 と 歩 行

品 川 嘉 也*・岡 本 純 子*・宇 山 親 雄**

Simulation of the human muscular movement by analog and digital computer I. Running and walking

Yoshiya Shinagawa, Junko Okamoto and Chikao Uyama (*Department of Physiology, Kyoto University School of Medicine, **Department of Electronics Faculty of Kyoto University)

The authors previously reported the equation of motion of human muscular movement as $m \cdot dv/dt = f - k_1 v - k_2 v^2 - k_3 v^3$. By means of analog and digital computer, were solved this equation and following two cases ;

$f = f_0 + A \sin(\omega t + \phi)$ (sine force),

and $f(t) = 0, 2k\pi < \omega t < (2k+1)\pi$ $f, (2k+1)\pi < \omega t < 2(k+1)\pi$ (pulse force),

where $k = 0, 1, 2, \dots$.

Taking the values of k_2 and k_3 as same as those in the energy dissipation function in the steady state, the computer simulation with these equations for running fits fairly well to the time course of the speed at the start. That for walking, however, showed discrepancies, the much greater values of these resistance coefficients needed for closer fitting. Discussion on these account were presented.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 442-445〕

われわれは先に Furusawa-Hill¹⁾ の運動方程式を拡張して、筋収縮の特性運動方程式にもとづく人体運動方程式を提出した²⁾。この運動方程式から、定常状態におけるエネルギー散逸関数を定義し、これを用いて走行時²⁾ および歩行時³⁾ の酸素消費率およびエネルギー代謝率を解析することができた。またこの定常状態におけるエネルギー散逸関数を用いて各種スピード競技の記録をシミュレートすることができた⁴⁾。これらは何れも定常状態での解析を目的としたものであった。同じ運動方程式を用いてスタート時の過度状態を表現できるであろうか？ 本稿はこの目的で人体運動をアナログおよびデジタル計算機でシミュレートすることを試みた結果である。本稿で用いた方法についてはすでに報告した⁶⁾。

I. 実 験 方 法

運動方程式はアナログおよびデジタル計算機の双方で解を求めた。

1. デジタル計算機 京大計算センターの電子計算機 KDC-II を使用, Runge-Kutta-Gill の第2公式により計算した。

2. アナログ計算機 三菱低速度形アナログコンピュータ MELCOM EA-7304 を用いた。回路は Fig. 1, 2 のように組んだ。

3. 測定値 Furusawa-Hill¹⁾ および古沢⁵⁾ の値を用いた。

II. 人体の運動方程式

われわれが先に提出した方程式²⁾

$$m \frac{dv}{dt} = f - k_1 v - k_2 v^2 - k_3 v^3 \quad (1)$$

を基礎においた。(1) 式の解析解については附録で論ずる。Fig. 1 a は (1) 式を解くための回

* 京都大学医学部第2生理学教室 (井上 章教授)

** 京都大学工学部電子工学教室 (近藤文治教授)

〔昭和43年3月8日受付〕

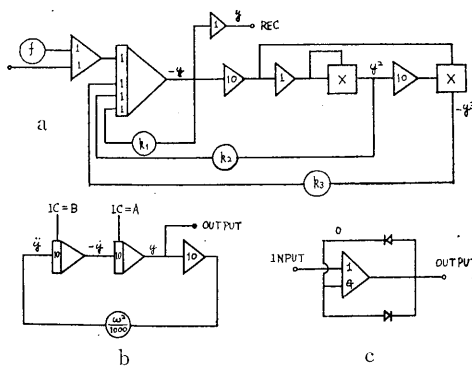


Fig. 1. The circuit used in analog computer, (a) the basic system, (b) the generator, (c) comparator.

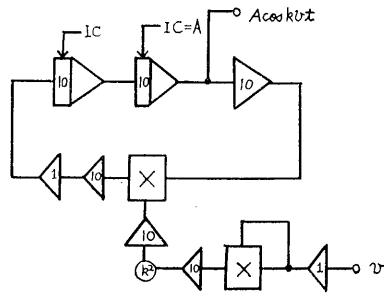


Fig. 2. The circuit generating the "sine force" of which frequency is proportional to the "speed" (v).

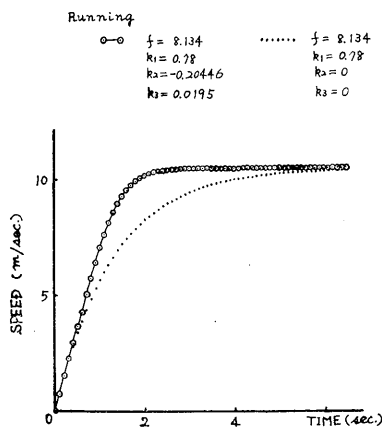


Fig. 3. Digital computer simulation of the speed of running at the start.

路である。さらに、定常状態での解析と違って力が周期的に働らくことを考慮すべきであると思われるので、正弦波的な力を加えた

$$m \frac{dv}{dt} + k_1 v + k_2 v^2 + k_3 v^3 = f + A \sin(\omega t + \phi) \quad (2)$$

なる式について解を求めた。ただし $A \leq f/2$ ととった、 $A > f/2$ のときは解が異常となる。正弦波は Fig. 1 b の回路で発生させた。この回路は IC の値により

$$y = A \cos \omega t + B \sin \omega t$$

となって正弦波 ($\phi = 0$) または余弦波 ($\phi = \pi/2$) を発生させることができる。また走行時には両足共に地表を離れる時間があるので、力はパルスに近くなると思われるので Fig. 1 b を generator, Fig. 1 c の回路を comparator として矩形波を発生させた。

$$\left. \begin{aligned} m \frac{dv}{dt} + k_1 v + k_2 v^2 + k_3 v^3 &= f(t) \\ f(t) &= 0, \quad 2k\pi < \omega t < (2k+1)\pi \\ &= f, \quad (2k+1)\pi < \omega t < 2(k+1)\pi \\ k &= 0, 1, 2, \dots \end{aligned} \right\} \quad (3)$$

を解いた。ただし $\omega = 2\pi p$, p は歩数/秒であり $p = 0.5 \sim 3.5$ の範囲で変化させて調べた。また周波数 ω が速度の関数となることを考慮して、(2) 式において $\omega = 2\pi v/l$ とおいた式についても解を求めた、ただし l は歩巾で $0.5 \sim 0.7$ m とした。この場合、正弦波は Fig. 2 の回路を使用した。

III. 実験結果

1. 走行 $k_2 < 0$, $k_3 > 0$ のかなり広い範囲にわたって安定な解がえられ、実測の終末速度と緩和時間を再現できる。Fig. 3 に

$$\frac{dv}{dt} = 8.134 - 0.78v + 0.20446v^2 - 0.0195v^3 \quad (1')$$

とおいた式のデジタル計算機による解を示す。 f , k_1 は Hill ら¹⁾の測定値 (被験者 Russel) によった、 k_2 , k_3 は先にわれわれ²⁾がエネルギー消費率から見積った値を用いた、すなわち

$k_1/k_3=40.0$, $k_2/k_3=-10.485$ である。これは定常状態におけるエネルギー散逸と、スタート時の過渡状態を全く同一の運動方程式で表現しうることを示している。尚 Fig. 3 はスタートの初期には走行速度は殆んど直線的に増加していることを示している。Hill¹⁾ らの原式では ($k_2=k_3=0$ に相当する, Fig. 3 の点線で示す) 速度が指数関数的に増加するのとの対照を示している。最大速度の 1/2 に達する時間には殆んど差がないが、最大速度に達するまでの時間には大きな差がみられる。この違いについては実際の走行の微細構造についての研究が必要であらう。

力が正弦波またはパルスで与えられる場合にも解の性質は殆んど変らない。Fig. 4 に (3) 式のアナログ計算機による解を示す。a は $f=\text{constant}$ の場合、b は周波数 1.9 c/s のパルス力の場合、c は同じく 3.1 c/s の場合である。f 一定の解に力の周波数と同じ周波数の波状成分が重畳していることが判る。

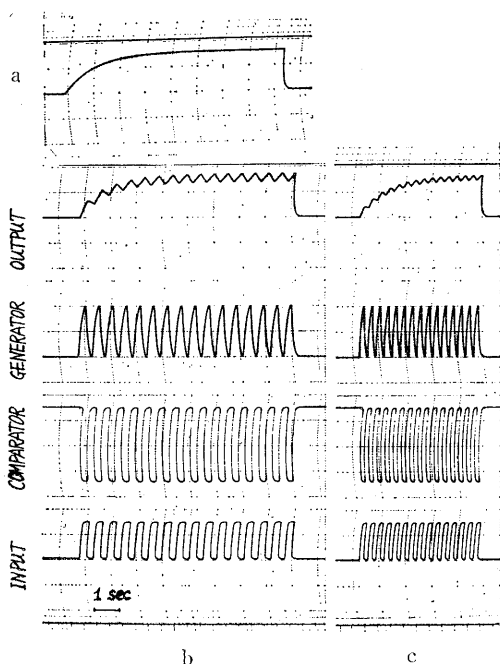


Fig. 4. Analog computer simulation of running, (a) $f=\text{constant}$, (b) and (c), pulse force, (b) $\omega=1.9$ c/s, (c) $\omega=3.1$ c/s.

2. 歩行 Hill¹⁾ らの原式に古沢⁵⁾ の測定値を代入しても全く現実に合わない。すなわち終末速度は実測の 1/2, 終末速度に達するまでの時間は 3~4 秒となって全く常識はずれとなる。これを実測値⁵⁾ (終末速度 1 m/sec, それに達する時間 1 秒以内) に合わせるには、運動方程式は

$$\frac{dv}{dt} = 0.404 - 0.97v + 25.566v^2 - 25v^3 \quad (1)''$$

とおかねばならない。Fig. 5 a, は (1)'' 式のアナログ計算機による解である。ただし (1)'' 式の係数値はデジタル計算機による解からえられたものである。Fig. 5 b は (2) 式の余弦波, c は正弦波を入力とした場合である。余弦波の場合にはスタート附近に小さな山が見られること、定常状態の速度に小さな波状成分が重畳し

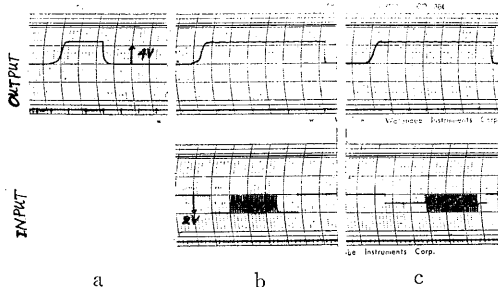


Fig. 5. Analog computer simulation of walking, the values of coefficients are obtained from digital computer analysis. (a) $f=\text{const.}$, (b) cosine force, (c) sine force.

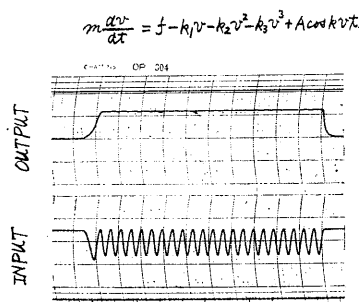


Fig. 6. Computer simulation of walking with cosine force, of which frequency is proportional to the speed.

ていることを除いて(1)''式の解と本質的に異なる点はない。これは力をパルスで与えた場合でも殆んど同様であった。

さらに Fig. 2 の回路によって、速度に比例する周波数をもった正弦波力を与えた場合にも Fig. 5 c と殆んど同様である (Fig. 6)。

IV. 考 察 と 結 論

歩行速度のシミュレーションによってえられた運動方程式(1)''の k_2 , k_3 の絶対値はいかにも大きく、定常状態のエネルギー散逸関数からえられる値³⁾、競歩の競技記録のシミュレーションからえられる値⁴⁾とは大きく隔っている。この事情は力として正弦波力またはパルス力を導入することによっても改善されない。したがってこれらの方程式はあくまでシミュレーションの式であった、各係数値の生理的意義を論ずるのは現時点では困難なようである。

これに対し、走行では(1)'式の k_2 , k_3 の値はエネルギー散逸関数から評価された値²⁾とほぼ等しく、陸上競技記録のシミュレーションからえられた値(文献4, (9)'式参照)にもかなり近い値である。すなわち、走行については全く同一の運動方程式で定常状態、過渡状態を一貫して扱うことができる。その理論的根拠は先にわれわれ²⁾が提案したように筋収縮のHillの特性方程式に求めることができよう。すなわち(1)'式の係数の生理的意義は前報²⁾のように解釈することができる。

御指導賜っている井上章教授に深く感謝致します。

内容につき討論して下さった三重県人村上長雄教授、プログラミングに協力された品川泰子技官に感謝します。

附 録

(1)式の左辺を零とおいた3次方程式を考える、

$$\left. \begin{aligned} p &= (3k_1k_3^2 - k_2^3)/9k_3^3 \\ q &= (2k_2^3 - 9k_1k_2k_3 - 27fk_3^3)/27k_3^3 \end{aligned} \right\} \quad (i)$$

とおいて、(1)式が生理的意味を持つためには $k_1, k_3 > 0$, $k_2 < 0$ であるから、この3次方程式の判別式は

$$D = q^2 + 4p^3 > 0 \quad (ii)$$

したがって1実根 (α とおく) と共役虚根 (β , γ とおく) をもつ。(1)式を変形して

$$mdv/dt = (v - \alpha)(v - \beta)(v - \gamma) \quad (iii)$$

とおいて積分すると

$$\begin{aligned} v &= \alpha \left[1 - \sqrt{1 - \left(\frac{1}{\beta} + \frac{1}{\gamma} \right) v + \frac{v^2}{\beta\gamma}} \cdot \exp \left\{ -\frac{k_3}{m} \right. \right. \\ &\quad \times (\alpha^2 - \beta + \gamma\alpha + \beta\gamma) \\ &\quad \left. \left. - \frac{2\alpha - \beta - \gamma}{(\beta - \gamma)i} \tan^{-1} \frac{i(\beta - \gamma)v}{2\beta\gamma - (\beta + \gamma)v} \right\} \right] \end{aligned}$$

となる、終末速度は α であり、2つの緩和時間をもつことがわかる。

文 献

- 1) Furusawa, K., Hill, A. V. and Parkinson, J. L. (1927) Roy. Soc. Proc., B **102**, 29
- 2) 品川嘉也・品川泰子・井上 章(1967)日本生理誌 **29**, 533-538
- 3) 品川嘉也・品川泰子・岡本純子(1967)日本生理誌 **29**, 696-699
- 4) 品川嘉也・品川泰子・井上 章(1967)日本生理誌 **29**, 539-543
- 5) 古沢一夫(1936)労働科学研究 **13** (3), 331-341
- 6) 井上 章・品川嘉也(1968)第37回近畿生理談話会シンポジウム「人体生理の基礎的問題」

〔原著〕

血液内キニン生成機作の分析 612.128.9

I 報・ストレプトキナーゼ (streptokinase)

によるキニン生成の条件

森 口 尊 文 *

Analysis of the process of kinin-formation in the intrinsic system

Takahumi Moriguchi (*Department of Physiology, Kobe University School of Medicine*)

The enzymes acting in the formation of kinin (bradykinin) in the intrinsic system are at present thought to be two. This report is concerned with experiments undertaken to investigate conditions under which the enzyme of the plasmin system possesses kinin-forming ability, and to throw light on the place occupied by plasmin, if any, in relation to kinin-formation in vivo.

1. The kinin-forming property of streptokinase-activated plasmin

The activity of plasmin in kinin-formation was found to vary, according to the amount of streptokinase used in activating the plasminogen. When the quantity of streptokinase added to euglobulin fractions of human serum was small (1 u/ml), fibrinolytic activity but no kinin-forming or TAME esterolytic activity was observed. This fibrinolytic activity was inhibited by t-AMCHA. However, when the quantity of streptokinase added to the euglobulin fractions was large (5,000 u/ml), three activities, fibrinolytic, kinin-forming and TAME esterolytic, none of which were inhibited by t-AMCHA, were found.

On the basis of these results a distinction is drawn between "narrow sense" plasmin (i. e. that produced by activation of plasminogen with a small amount of streptokinase) and "broader sense" plasmin (i. e. that produced by activation of plasminogen with a large amount of streptokinase).

[J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 446-456]

序 論

血漿蛋白に、ある種の蛇毒、およびトリプシンを作用させると、平滑筋の収縮および弛緩、血管壁の透過性亢進、疼痛等を起す作用物質が生じる。1949年 Rocha e Silva et al.¹⁾ はこの物質にブラディキニン (bradykinin) という名を与えたが、以来この作用物質をめぐる研究報告は年々その数を増加しつつある。しかしながら、血液内におけるキニン生成の機作に関する生理学的な知識は、基本的な点で未解決な問題がのこされてきている。その事は、今後の研究の方向を示唆するものとみなされよう。すなわち、歴史的にみると、キニン生成酵素系に関しては、すくなくとも二つの可能性が論議され、今日にいたっている。

1950年 Beraldo²⁾ は、犬のアナフィラキシーショック時の血液に、ブラディキニン様物質の増加と、線溶酵素プラスミンの活性亢進とがほぼ平行する事実を報告し、プラスミンとキニン生成の関連に注目した。これに反し、同年、Frey et al.³⁾、おくれて Werle⁴⁾⁵⁾ は、尿よりえたカリクレインが、また、ブラディキニン様作用をもつ物質を作ること報告した。尚、この物質はカリジン (kallidin) と名づけられたが、その後、ブラディキニンの構造が決定されるにおよんで (Elliott et al.⁶⁾)、このカリジンは、ブラディキニンのN末端アルギニンにリジンがついたものであることが判明したのである (Pierce and Webster⁷⁾)。また、カリクレインは血液の中ではその前駆物質カリクレイノーゲンとして存在することが報告されている⁴⁾⁵⁾。

したがって、本論文より始まる一連の報告では、血液内でキニン生成に関与するとみなされ

* 神戸大学医学部生理学第1講座
〔昭和43年2月13日受付〕

る上記二つの酵素系, すなわち, プラスミン系, およびカリクレイン系が, 果して, あるいは, どのような機作で活性化されキニンを生成するのか, また, 生体内でじっさいにおこりうる機作は, どのようなものであるのか, さらにまた, 両者酵素間になんらかの相互作用がありうるか否か等の問題の追究が意図されたのである. しかし, この第 I 報では, プラスミンの活性化物質ストレプトキナーゼ (以下 SK と略す) によるキニン生成の有無を中心として研究をすすめた.

問題をプラスミンによるキニン生成の研究にしぼってみる. 1950年 Beraldo²⁾ の実験について1956年 Schachter⁸⁾, 1957年 Lewis and Work⁹⁾ 等によって牛プラスミン, ヒトプラスミンとも, キニン様物質を生成することが示された. また, このキニン様物質は, ブラディキニンとは区別しえないとされた¹⁰⁾. しかし, その後, 1960年, Bhoola et al.¹¹⁾ の研究によると, ヒトプラスミンを種々の動物のグロブリンと反応させてもキニンは生成されないという. また, 1963年 Eisen¹²⁾¹³⁾ もヒト血漿を用いて種々の方法で, キニンの生成, およびプラスミンの活性化をこころみ, その量的比較を行なったが, 線溶とキニンの生成は必ずしも平行しなかった.

翌1964年, Vogt¹⁴⁾ は SK 活性化プラスミンは, 直接キニノーゲンに作用してキニンを作るのではなく, 間接的にキニンを作ると報告した. しかし, 1965年, Back and Steger¹⁵⁾ は純化したプラスミンノーゲンにウロキナーゼを加えて活性化したプラスミンは, 純化したキニノーゲンに作用して直接キニンを作ると報告し, Vogt の見解と対立した. また藤井¹⁶⁾ にも同様の見解をもつものとみられる.

上述の如く, プラスミンによるキニン生成の研究は, 多くの研究者によってなされているが, 未だ統一した見解をうるにいたったとは一般にみなされていない. ここで注目される点は, 前述の諸研究において, 使用されたプラスミンの性質に関し, 疑問の余地がのこされていることである. すなわち, 下記の諸研究はこの

際, 参照に値するものとみられるのである. すでに, Troll et al.¹⁷⁾ は, SK で活性化したプラスミンには, 線溶活性以外に, 合成基質 *tosyl-arginine-methyl-ester* (以下 TAME と略す) 分解活性が存在することを認めている. しかし, Oshiba et al.¹⁸⁾ によると, プラスミンノーゲン分層に加える SK の量によって, 線溶能と TAME 分解能に差があらわれることが指摘された. すなわち, プラスミンノーゲン分層に加える SK が少量の場合は, 線溶活性だけを生じるが, SK が大量に加えられると線溶活性以外に TAME 分解活性が現われてくるという. 便宜上, 前者を narrow sense plasmin, 後者を broader sense plasmin と仮称することができよう. すなわち, すくなくともユーグロブリンに加える SK の量によって, 生じるプラスミン酵素活性に一見質的な差異が生じることについては, 疑問の余地が少い. したがって, 本論文では, ヒト乾燥血漿より作製したユーグロブリン分層に加える SK の量を変え, それがプラスミン系のキニン生成活性におよぼす影響を検討した.

実験材料および方法

A. 実験材料

1. ストレプトキナーゼ (SK): Lederle 社製の *varidase* を生理的食塩水にて種々の単位に溶解して使用した.

2. *Trans-form amino methyl cyclohexane-carboxylic acid*¹⁹⁾ (以下 t-AMCHA と略称): 第一製薬より提供された純末を生理的食塩水で種々の濃度に溶解して使用した.

3. *Sodium desoxycholate*: Difco 社製品をそれぞれ使用目的に適当な緩衝液にて, 目的の濃度に溶解して使用した.

4. 合成ブラディキニン: Sandoz 社製品, BRS 640 を生理的食塩水にて目的の濃度に稀釈して用いた.

5. *Trypsin*: Worthington 社製の 2 X crystallized trypsin を生理的食塩水に溶解して用いた.

6. カリクレイン: バイエル社の Dr. E.

Auhagen の好意によりえたブタの脾カリクレイン 290 KE/mg を目的の濃度に生理的食塩水で溶かして用いた。

7. Silicate powder : Great Lakes Carbon 社製の speed plus を使用した。この製品は直径 9μ の silicate particles を90%含む。

8. 合成女性ホルモン：帝国臓器社製ヘキセストロール (商品名、ヘキスロン) 2.5 mg を 25 ml の生理的食塩水に溶解、その 0.5 ml をラットの腹腔に注射した。

9. フィブリノーゲン：Armour 社製の牛の Cohn's fraction I を borate saline buffer (pH 7.8) にて溶解し、凝固可能蛋白量として 0.13% の溶液を作製して使用した。

10. トロンビン：持田製薬の牛トロンビンを生理的食塩水にて20単位/ml に溶解して使用した。

11. Tosyl-arginine-methyl-ester (TAME)：ミノファーゲン薬品社製の合成基質である純水にて 0.1 M 溶液を作製して使用した。

12. 緩衝液：

a. Borate saline buffer (pH 7.8) : Norman²⁰⁾ の記載した方法にて作製し、フィブリン分解測定法に使用した。

b. 0.2 M トリス緩衝液 (pH 9.0) : TAME 分解測定法に使用した。

c. 0.01 M トリス緩衝液 (pH 7.6) : Kininogen fraction の溶解および透析用外液として使用した。

13. Mg^{++} -free Tyrode solution : 第1液, (NaCl 8.0 g, KCl 0.2 g, $CaCl_2$ 0.2 g, 蒸溜水 800 ml), 第2液 (NaH_2PO_4 0.05 g, $NaHCO_3$ 1.0 g, 蒸溜水 200 ml, ブドー糖 1.0 g), 使用に際し, 第1液, および第2液を混合し, 空気を充分に通じた後, モルモットの腸管による kinin の bioassay に使用した。

14. Phenol red free Hanks 液 : NaCl 80.0 g, KCl 4.0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 2.0 g, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 0.6 g, glucose 10.0 g, KH_2PO_4 0.6 g を 800 ml の純水で溶かし, これと $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 1.4 g を 100 ml の純水で溶かしたものを混合し

た後, 1.4% $NaHCO_3$ 液にて, pH 7.4 にする。これをラットの子宮による kinin の bioassay に使用した。

15. Euglobulin fraction (plasminogen fraction) : Norman²⁰⁾ の記載せる方法を参考にした。ミドリ十字社製の乾燥人血漿より血清をうる。これを純水にて20倍に稀釈し, よく攪拌しながら1%酢酸を徐々に滴下し, pH 5.2 にした。これを氷室内で30分間放置した後, 低温遠心分離操作を行ない, えられた沈渣に最初の血清の半量の生理的食塩水を加え, 同時に重炭酸ソーダを添加して, pH 7.4 に調整すると共に, この沈渣を完全溶解させ使用した。

16. Kininogen : Amundsen et al.²¹⁾ の方法を改良して用いた。犬の0.3%クエン酸加新鮮血漿 100 ml を “speed plus” 3 g をつめたシリコン加工 glass column に通した。この “speed plus” 通過イヌ血漿の飽和硫酸33~46%沈澱部分を 0.01 M tris buffer (pH 7.6) で $2^\circ C$, 48時間透析した。その間 tris buffer は3度交換した。このようにしてえたイヌの pseudoglobulin fraction を kininogen 標品として使用した。しかし, 実験の多くは, kininase 活性を除くために²¹⁾²²⁾ 使用直前, 1 N HCl を加えて, pH 2 にし, $37^\circ C$ 10分加温した後, 1 N NaOH で pH 7.4 に戻したものを使用した。

B. 測定方法

1. フィブリン溶解能測定法：

加熱フィブリン平板法 : Lassen²³⁾ の方法にしたがった。Astrup and Müllertz²⁴⁾ の記載せる方法に準じ, 標準フィブリン平板を作製した。これを $85^\circ C$, 35分加熱して基質に混在しているプラスミノーゲン等を加熱破壊したフィブリン平板を作った。この加熱平板上に被検液 0.03 ml を滴下し, $37^\circ C$ で18時間放置後, フィブリン平板上の溶解面積を測定した。面積は, 溶解面の長径×短径 (mm^2) で表現した。抑制物質を用いた実験では, あらかじめ, 各濃度の抑制物質を加えた標準平板を作り, 上記と同じ操作を加えて実験に供した。

2. TAME分解活性測定法 : Troll et al.¹⁷⁾

の方法にしたがった。0.1 M TAME 1 ml に 0.2 M トリス緩衝液 3 ml を加え、これに被検液 1 ml を加えて 37°C, 30分, 60分, 120分加温した。これより 1 ml を取り出し、37%ホルマリン液 (pH 8.0) 1 ml を加え、この液を苛性ソーダにて滴定した。TAME 分解活性は、遊離した酸のアルカリ中和量 (μ M) で表現した。

3. Kinin の生物学的測定法

a. モルモットの腸管による測定法：約 300 g のモルモットを断首、脱血した後、盲腸より 2 cm 口側の回腸を 1 cm 切り取り、両端を木綿糸で結び、その一端を 10 ml の Mg^{++} free Tyrode 液を満したガラス槽の底部に固定し、他端をヘーベルにつなぎ、1.5 g の荷重をかけて懸垂した。ヘーベルを通じて腸管の収縮をキモグラフィオンの煤紙に描記させた。また、ガラス槽内部の Mg^{++} free Tyrode 液は 30°C に保ち、常に空気泡を送りこんだ。測定には、被検体を入れる前に合成ブラディキニンでその収縮高を見、被検体の収縮高と比較した。作用時間は 1 分間とし、被検体作用後、腸管を Mg^{++} free Tyrode 液で 5 回洗った後、3 分間の休憩を与えた。腸管は合成ブラディキニンの 5 ng/ml より 50 ng/ml の間で、その量と収縮高および潜伏時間の間に一定の関係をうることができた。

b. ラットの子宮による測定法：約 150~180 g のウイスター系処女ラットを使用した。実験に供する 15~20 時間前にヘキセストロール 0.05 mg を腹腔に注射した。断首、脱血後充血した子宮の一角より 1 cm の長さを切り取り、モルモットの腸管と同じ方法で使用した。 Mg^{++} free Tyrode 液のかわりに phenol red free Hanks 液を用いた。ラットの子宮は合成

ブラディキニンの 0.5 ng/ml より 5 ng/ml の間で測定することができた。

実験成績

1. ヒト・ユーグロブリン分画に 5,000 単位 SK および 1 単位 SK を加えた際の線溶解能
ヒト乾燥血漿より作製したユーグロブリン分画溶液 (血漿内濃度の 2 倍になるように溶解した) 1 容に SK 溶液 1 容を加え、ユーグロブリン最終濃度が血漿に含まれると同じ濃度にした。そして反応液における SK の最終濃度が、1 単位/ml (以下、単に SK 単位を記した実験例では、ml 当りの最終濃度を示す) と 5,000 単位になる 2 系列の標本を作製した。それぞれの線溶解活性を加熱フィブリン平板で測定した結果を表 1 に示す。

表 1 が示す如く、加える SK の量によって線溶解活性に差を生じない。抗線溶物質 trans-AMCHA の 10^{-2} M は、1 単位 SK で活性化された線溶解活性は完全に抑制するが、5,000 単位 SK によるものはほとんど抑制しない。

次に、後述するキニン生成実験のために、ユーグロブリン分画溶液中に合成ブラディキニンを分解する酵素、Kininase が存在するかいなかをしらべた。測定方法は 10 μ g/ml 合成ブラディキニン液 0.5 容にユーグロブリン分画溶液 0.25 容、生理的食塩水 0.25 容を混じり、37°C でそれぞれの時間加温した後、モルモットの腸管に混合物 0.1 ml を作用させ、その収縮高より、合成ブラディキニンの残存状態をしらべた。

図 1 の如く、合成ブラディキニンの活性は徐々に低下し、120 分でその活性を失なった。これはユーグロブリン分画中に合成ブラディキニンを分解する酵素が存在することを示唆する。

Table 1. Fibrinolytic activity of euglobulin fractions after addition of SK

Final concentration of SK (u.)	Fibrinolytic activity as estimated by area of lysis (mm ²) of heated fibrin plates	
	without t-AMCHA	with 10^{-2} M t-AMCHA
5×10^3	81	81
1	81	0

この酵素活性を除くために、Horton²²⁾の方法により酸処理した。すなわち、ユーグロブリン分画溶液を IN HCl で pH 2.0 にし、10分 37°C で加温した後、IN NaOH で pH 7.4 に戻した。このように酸処理したユーグロブリン分画は、もはや合成ブラディキニンを分解しなかった。また、酸処理したユーグロブリン分画溶液に SK を加えて線溶活性を測定したが、表 2 に示す如く、酸処理は線溶活性に影響を与えなかった。

II. ヒト・ユーグロブリン分画に 5,000 単位 SK および 1 単位 SK を加えた際の TAME 分解活性

線溶活性と同じく、ユーグロブリン分画に加える SK の量によって TAME 分解活性にどのような影響を与えるかを確めた¹⁸⁾。

図 2 に示す如く、ユーグロブリン分画溶液に、最終濃度 1 単位/ml になるよう SK を加えたものは、TAME 分解活性をほとんど示さないのに対し、5,000 単位/ml になるように SK を加えたものでは、ユーグロブリン分画の酸処理によってその活性はすこし減じるとはいえ、無処理の場合と大差ない活性がえられた。これは線溶活性に差が認められなかったのとは対蹠的である。

次に抗線溶物質 trans-AMCHA による TAME 分解活性の抑制効果を調べたが、図 3 に示す如くほとんど抑制しなかった。

しかし、Oshiba et al.¹⁸⁾の報告の如く、胆汁酸の一種である desoxycholate (以下 DOC と略す) はその活性を抑制するという事実を確めた。また、この DOC は Oshiba et al. の報告にある如く、トリプシン、トロンビンによる TAME 分解活性を抑制しなかった。

III. ヒト・ユーグロブリン分画に 5,000 単位 SK および 1 単位 SK を加えた際のキニン生成能

次に、これら二系列の実験条件によるキニン生成活性について検討した。使用したキニノーゲンは、Amundsen et al.²¹⁾の方法を改良して作製したイヌのプソイドグロブリン分画である。このプソイドグロブリン分画には、ユーグロブリン分画と同様 kininase 活性が存在したので、使用直前に実験方法の項でのべた如く酸処理した。酸処理した状態で、24時間 0°C に放置したものは、少しではあるがキニン活性を生じてくる。この問題については、次報でふれる。しかし、使用直前に酸処理したプソイドグロブリン分画は、37°C で 2 時間加温してもキニン

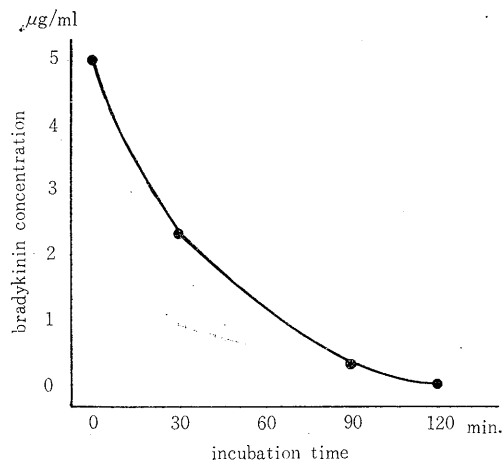


Fig. 1. Kininase activity of euglobulin fractions after incubation at 37°C. 0.25 ml of euglobulin fraction was incubated with 0.25 ml of saline and 0.5 ml of 10 μ g/ml synthetic bradykinin. Guinea-pig intestine was used to estimate the bradykinin concentration of a 0.1 ml sample of the incubated mixture.

Table 2. Fibrinolytic activity of acid-treated euglobulin fraction after addition of SK

Final concentration of SK (u.)	Fibrinolytic activity as estimated by area of lysis (mm ²) of heated fibrin plates	
	without t-AMCHA	with 10 ⁻² M t-AMCHA
5 × 10 ³	100	81
1	81	0

活性は認められなかった. この酸処理したプソイドグロブリン分画溶液 0.8 ml に, ml 当り 1 単位, または 5,000 単位 SK を含む酸処理したユーグロブリン分画溶液 0.1 ml および生理的食塩水 0.1 ml を混じ, 37°C でそれぞれの時間加温した後, その 0.1 ml をラットの子宮に作

用させ, キニン生成活性をしらべた. 生成されてくるキニン量は, 合成ブラディキニンの収縮高と比較して測定した.

図4が示す如く, ユーグロブリン分画に, 5,000 単位 SK を加えた標本はキニン様物質を生成する. しかし, 1 単位 SK を加えたものは, 90 分の作用時間ではキニン様物質生成活性を示さない. すなわち, 線溶活性が同程度にあるにもかかわらず 1 単位 SK を加えたものはキニンを生成しない. もちろん, プソイドグロブリン分画に 5,000 単位 SK のみを加えたものは, キニン様物質は生成されなかった.

ユーグロブリン分画に 5,000 単位/ml になるように SK を加えたものはキニン様物質を生成するのに, 1 単位 SK を加えたものは, 何故キニン様物質を生成しないのだろうか. 5,000 単位 SK を加えたものは, 線溶活性および TAME 分解活性を示す. 10^{-2} M trans-AMCHA はその線溶活性, TAME 分解活性を抑制しなかった. 10^{-2} M DOC は, 線溶活性に対する抑制効

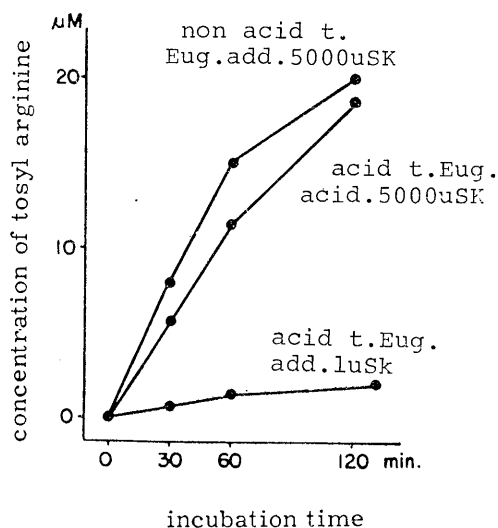


Fig. 2. TAME esterolytic activity of euglobulin fraction with various amount of SK.

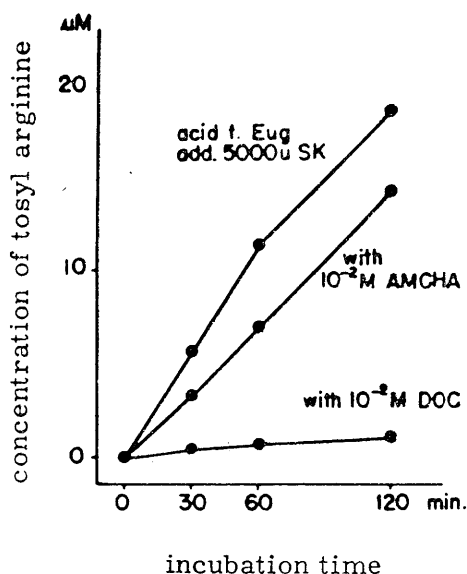


Fig. 3. Inhibitory effects of DOC or t-AMCHA on TAME esterolysis.

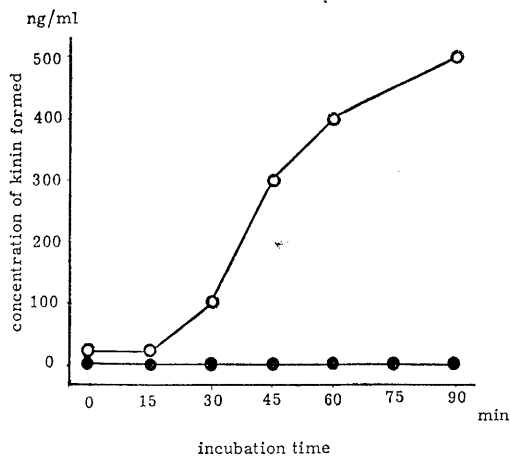


Fig. 4. Kinin-formation in a mixture of acid-treated euglobulin fraction with SK added, and acid-treated pseudoglobulin fraction, after incubation at 37°C. 0.1 ml of acid-treated euglobulin fraction, with SK added, was incubated with 0.8 ml of acid-treated pseudoglobulin fraction and 0.1 ml of saline. Isolated rat uterus was used to estimate the kinin formed in a 0.1 ml sample of the incubated mixture. ○—○—○ with 5,000 u. SK added. ●—●—● with 1 u. SK added.

果は、強い detergent 作用のために、フィブリン塊を作ることができず、測定不能であったが、TAMe 分解活性は抑制した。一方、1 単位 SK を加えたものは、5,000 単位 SK によるものと同様に線溶活性は存在する。しかし、trans-AMCHA は、その線溶活性を完全に抑制する。また 5,000 単位 SK によるものとは違って TAMe 分解活性を示さない。このことは、ユーグロブリン分画に加えられる SK の量によって生じてくる活性が明らかに違うことを示している。この性質の異った物質の酵素化学的性質については、この論文では議論をさけるべきであろう。

では、ユーグロブリン分画に 5,000 単位 SK を加えたもののキニン生成は、その線溶活性、TAMe 分解活性のどちらによるものかという疑問が生ずる。この問題を解決するために、次の実験を試みた。

図 4 と同じ実験系で、生理的食塩水の代りに、最終濃度が 10^{-2} M になるように trans-AMCHA, DOC を加えた。

図 5 が示すように、 10^{-2} M trans-AMCHA は、5,000 単位 SK によるもののキニン生成活性を抑制することができなかった。しかし、 10^{-2} M DOC はこの活性を抑制した。このことは、5,000 単位 SK によるものの TAMe 分解活性が、キニンを生成している可能性を強く示唆している。しかし、その線溶活性も 10^{-2} M trans-AMCHA で抑制されにくいことから、キニン生成活性に無関係であるとはいえない。そのため、抑制物質だけでは、この問題を解決することはできない。これらの問題については次報で詳述する。

なお、DOC は、強い detergent 作用をもつ物質であるため、キニノーゲンの変性によってキニン生成活性を抑制しているようにみえるのではないかという疑問が生ずる。

図 6 は、この疑問を解決するためになされた。

前実験に用いた同じプソイドグロブリン分画溶液 0.8 容に 0.1 mg/ml トリプシン 0.1 容、およ

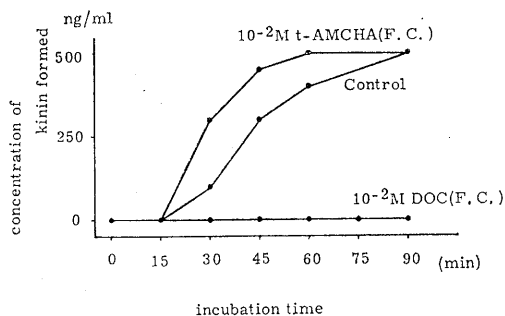


Fig. 5. Inhibitory effect of DOC and t-AMCHA on the kinin-forming activity of plasmin activated by 5,000 u. SK, after incubation at 37°C. 0.1 ml of acid-treated euglobulin fraction, with 5,000 u. SK added, was incubated with 0.8 ml of acid-treated pseudoglobulin fraction and 0.1 ml of 10^{-1} M DOC or 10^{-1} M t-AMCHA. Isolated rat uterus was used to estimate the kinin formed in a 0.1 ml sample of the incubated mixture.

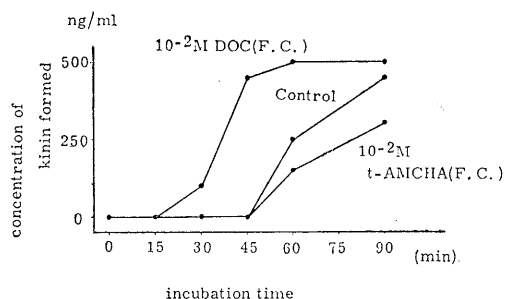


Fig. 6. Inhibitory effect of DOC and t-AMCHA on the kinin-forming activity of trypsin after incubation at 37°C. 0.1 ml of 0.1 mg/ml trypsin was incubated with 0.8 ml of acid-treated pseudoglobulin fraction and 0.1 ml of 10^{-1} M DOC or 10^{-1} M t-AMCHA. Isolated rat uterus was used to estimate the kinin formed in a 0.1 ml sample of the incubated mixture.

び、saline 0.1 容、または抑制物質 0.1 容を加え、上記実験と同じ操作によってキニン様物質を測定した。図 6 に示す如く、DOC はトリプシンのキニン生成活性を全く抑制しなかった。このことは、DOC はキニノーゲンを変性しないことを示している。また、trans-AMCHA はわずかではあるが、キニン生成活性を抑制した。その抑制効果は、トリプシンの線溶活性、および TAMe 分解活性に対する trans-

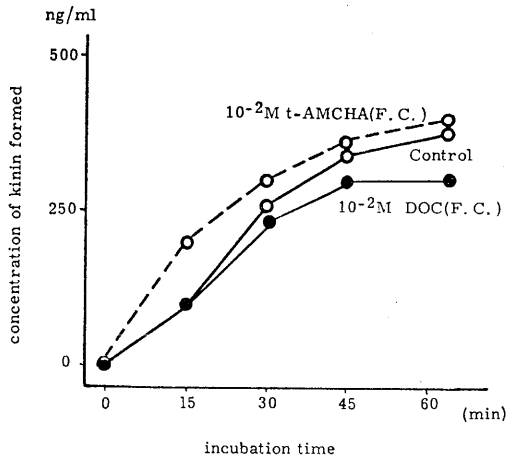


Fig. 7. Inhibitory effect of DOC and t-AMCHA on the kinin-forming activity of pancreas kallikrein after incubation at 37°C. 0.1 ml of 100 ng/ml pancreas kallikrein was incubated with 0.8 ml of acid-treated pseudoglobulin fraction and 0.1 ml of 10^{-1} M DOC or 10^{-1} M t-AMCHA. Isolated rat uterus was used to estimate the kinin formed in a 0.1 ml sample of the incubated mixture.

AMCHA の抑制効果と類似していた。

次に組織カリクレインのキニン生成に対する DOC の効果をしらべた。実験系はブソイドグロブリン分画溶液 0.8 容に、100 ng/ml カリクレイン 0.1 容、および抑制物質 0.1 容を加え、37°C で加温した後、その 0.1 ml をラット子宮に作用させ、キニン生成活性をしらべた。

図 7 が示すように、DOC は組織カリクレインによるキニン生成過程をも抑制しなかった。

これらのことより DOC は大量 SK 活性プラスミンのキニン生成活性をかなり特異的に抑制するものと思える。

考 察

以上、著者の実験でえられた成績は、ヒトの一定量のユーグロブリン分画溶液に加える SK の量を増加させると、酵素活性にすくなくとも現象的には「質的」な差異が生じてくることを示した。すなわち、SK 量が少い場合には線溶活性のみをみるが、SK 量の増加とともに、TAMe 分解活性が出現し、さらにキニン生成活性が観察された。この論文では、すでに示唆さ

れていた上記の知見を確認するとともに、とくにキニン生成活性が種々の点で TAMe 分解活性と平行することを見出しえたのである。

この両者の平行関係として、1) 大量 SK を要する。2) Trans-AMCHA で抑制されない、さらに、3) DOC で抑制される、の 3 点がここに新に報告された。この知見は、当然種々の討論を要する問題である。

第 1 に、プラスミノゲン分画に加えられる SK 量の差によって、上記のように活性化されてくる酵素活性の性質が異なるのはなぜかという点である。ここに想起されることは、1965 年 Robbins et al.²⁵⁾ はこの問題に対する酵素化学的解釈に一つの示唆を与えている事実である。すなわち、純化したヒト・プラスミノゲン分画に少量の SK を加えた場合、プラスミノゲンはプラスミンになる。しかし、大量 SK を加えた場合、プラスミノゲンはプラスミンに変化するが、残った SK はできたプラスミンと complex を作る。この plasmin•SK complex は牛のプラスミノゲンのアクチベーターになるという説明である。もし少量 SK によって出現するプラスミンが線溶活性だけを示し、plasmin•SK complex が線溶活性、TAMe 分解活性、およびキニン生成活性を有しているならば、著者のこの論文の成績は酵素化学的に一応説明することができよう。しかしながら、Robbins et al. は、主としてカゼイン分解活性を対象として分析をすすめてきている。したがって、plasmin•SK complex がキニン生成活性をもつか否かについては知られていない。したがって、大量 SK による酵素活性は、酵素 SK complex によるとみなすことは、単に一つの推測にすぎないことはもちろんであろう。むしろ、現時点では、この問題の議論を措き、著者は少量 SK で活性化されてくる酵素に対し、narrow sense plasmin, 大量 SK で活性化されてくるものに、broader sense plasmin という仮称を提案するにとどめたいと思う。分子レベルにおけるこの問題の解決には、カゼインではなく、フィブリノーゲン、キニノーゲン系の生理学的に意味あ

る基質を用いる研究の成果が俟たれる次第である。

では、1950年、Beraldo がイヌのアナフィラキシー・ショック時の血液に、ブラディキニン様物質の出現とプラスミン活性の亢進を発表して以来の問題、すなわち、プラスミンがキニンを作るか否かという問題はどのように一応解すべきであろうか。著者が便宜的に提案した概念によると、*narrow sense plasmin* はキニンを作らないが、*broader sense plasmin* はキニンを作るという考えが成り立ちうるのである。この見解に立つと、多くの研究者によってなされた今日までの成績は、どのように説明されるであろうか。この討論は、とくに、どのようなプラスミン標本を用いたかという実験条件を切り離すことができない。たとえば、1956年 Schachter⁸⁾ が用いたプラスミンは、Loomis によって作られた *bovine fibrinolysin* を Unger からえたものである。この *bovine fibrinolysin* がどのような方法で作られたものかについては記載がないが、通常牛のプラスミノーゲンを活性化するためには、非常に高単位の SK が必要であり、著者のいう *broader sense plasmin* が用いられた可能性が大きい。次に、1957年の Lewis et al.⁹⁾、1958年の Lewis¹⁰⁾ の研究であるが、用いられたプラスミンは Merk Sharp and Dohme 社の製品と Kline²⁶⁾ の方法でえた *plasminogen preparation* に大量の SK を加えたものである。この2つの *plasmin* はわれわれのいう *broader sense plasmin* と同一であると見做して差しつかえなからう。また、1960年 Bhoola et al.¹¹⁾ が用いたプラスミンは、Lewis が用いた Merk Sharp and Dohm 社製で同一の操作でえられたものと考えられる。それにもかかわらず、これらの著者らが、否定的な結果をえた原因は、標本の何らかの差異によるとも考えられるが、他のありうべき原因としてモルモットの腸管を懸垂した Bath の中へ *kininogen preparation* とプラスミンを加えるという実験 system を使っており、しかも反応時間が短かったことが考えられる。事実著者の実験では、*kininogen*

preparation とプラスミンを 37°C で加温反応させた後、一定量を *bioassay* に用いるという方法を用いており、しかもキニンが証明されるようになる反応時間は15分以上であり、Bhoola et al. の実験条件は、キニン生成の研究に適したものとは思にくい。

さらに1963年、Eisen¹³⁾ は、*silica*, *acid*, *acetone*, *glass*, *streptokinase*, *epsilon-amion-methyl-cyclohexane-carboxylic acid* 等を用いて、ヒト血漿のキニン生成と、線溶活性を比較したが、*streptokinase* 以外は、線溶活性とキニン生成活性は平行しなかったという。*Streptokinase* は、50~100単位/ml という著者が用いた中間の部分を使っているので、明瞭な区別をうることができなかったものと思える。

1964年 Vogt¹⁴⁾ は大量 SK を加えたヒトプラスミンは、キニノーゲン分画中に含まれるカリクレイノーゲンをカリクレインに変化させ、これがキニンを作ると報告した。この問題に対する著者の見解は、第Ⅱ報にのべるが、いずれにしろ大量 SK 活性化プラスミンは、キニンを生成するということでわれわれの実験成績と同一であるといえよう。

また1965年の Back and Steger¹⁵⁾ の成績も著者の成績と本質的に一致するものと見られる。すなわち、Back et al. の研究においてプラスミノーゲンの活性化に用いたのは *urokinase* であるが、この製品は、Park, Davis Company で作製されたもので、プラスミノーゲンに用いられている *urokinase* 量は相当大量 (400単位/ml) であり、この種のプラスミンは、当然 TAME 分解活性を有する。したがって、一応、*broader sense plasmin* とみなしうるのである。

本論文は、プラスミンがキニンを生成するか否かという問題に現象的な解答を与えたものといえよう。すなわち、*broader sense plasmin* はキニンを生成するが、*narrow sense plasmin* はキニンを生成しないと考えられるのである。では生体ではどちらのプラスミンが活性化されるのだろうか。この解答を与えることによって、はじめに述べた Beraldo の問題は解決され

るであろう。この問題については、第Ⅲ報で詳述する。

総 括

1. 1 ml ヒト血漿よりえたユーグロブリン分画 (酸処理) に 1 単位 SK, および 5,000 単位 SK を加え活性化した酵素の線溶活性は同程度であった。しかし、 10^{-2} M trans-AMCHA は前者の線溶活性を完全に抑制したが、後者のそれをほとんど抑制しなかった。

2. 同様にしてえたユーグロブリン分画溶液に 5,000 単位 SK を加えて活性化した酵素では、TAMe 分解活性がみられたが、1 単位 SK によるものは、それが見られなかった。この TAMe 分解活性は、 10^{-2} M trans-AMCHA で抑制されなかったが、 10^{-2} M DOC で抑制された。

3. このユーグロブリン分画溶液に 5,000 単位 SK を加えて活性化した酵素はイヌのプソイドグロブリン分画に作用してキニン様物質を生成した。 10^{-2} M DOC はこのキニン様物質生成活性を抑制したが、 10^{-2} M trans-AMCHA は抑制しなかった。1 単位 SK によるものは、キニン様物質生成活性は見られなかった。

4. 10^{-2} M DOC は、トリプシン、および組織カリクレインによるキニン生成活性を抑制しなかった。

稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導御校閲を賜った岡本彰祐教授に深甚なる謝意を捧げると共に、ご鞭撻、ご助力をいただいた金城清勝助教授、柴、美原両講師に深謝し、あわせて教室員各位のご協力を心より感謝いたします。

文 献

- 1) Rocha e Silva, M., Beraldo, W. T. and Rosenfeld, G. (1949) Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin. *Am. J. Physiol.* **156**, 261-273
- 2) Beraldo, W. T. (1950) Formation of bradykinin in anaphylactic and peptone shock. *Am. J. Physiol.* **163**, 283-289
- 3) Frey, E. K., Kraut, H. und Werle E. (1950) Kallikrein (Padutin), Enke. Stuttgart.
- 4) Werle, E. (1960) Polypeptides which stimulate plain muscle. pp 20-27. ed. Gaddum, J. H. Edinburgh : E. and S. Livingstone.
- 5) Werle, E. (1960) In : Polypeptides which affect smooth muscles and blood vessels, ed. Schachter, M. O., p. 199, London : Pergamon Press.
- 6) Elliott, D. F., Lewis, G. P. and Horton, E. W. (1960) The structure of bradykinin : a plasma kinin from ox blood. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **3**, 87
- 7) Pierce, J. V. and Webster, M. (1961) Human plasma kallidins : isolation and chemical studies. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **5**, 353
- 8) Schachter, M. (1956) A delayed slow contracting effect of serum and plasma due to the release of a substance resembling kallidin and bradykinin. *Brit. J. Pharmacol.* **11**, 111-118
- 9) Lewis, G. P. and Work, T. (1957) Formation of bradykinin or bradykinin-like substances by the action of plasmin on plasma proteins. *J. Physiol.* **135**, 7-8p
- 10) Lewis, G. P. (1958) Formation of plasma kinins by plasmin. *J. Physiol.*, **140**, 285-300
- 11) Bhoola, K. D., Calle, J. D. and Schachter, M. (1960) The effect of bradykinin, serum kallikrein and other endogenous substances on capillary permeability in the guinea-pig. *J. Physiol.* **152**, 75-86
- 12) Eisen, V. (1963) Observations on intrinsic kinin-forming factors in human plasma : The effect of acid, acetone, chloroform, heat and euglobulin separation on kinin formation. *J. Physiol.*, **166**, 496-513
- 13) Eisen, V. (1963) Kinin-formation and fibrinolysis in human plasma. *J. Physiol.* **166**, 514-529
- 14) Vogt, W. (1964) Kinin-formation by plasmin, an indirect process mediated by activation of kallikrein. *J. Physiol.* **170**, 153-166
- 15) Back, N. and Steger, R. (1965) Activation of bovine bradykininogen by human plasmin. *Life Sciences*, **4**, 153-157
- 16) 藤井節郎等 ; (私信)
- 17) Troll, W., Sherry, S. and Wachman, T. (1954) The action of plasmin on synthetic substrates. *J. B. C.*, **208**, 85-93
- 18) Oshiba, S., Hata, S. et al. (1965) Inhibition by bile on esterolytic activity produced with streptokinase in blood plasma. XXIII. Int. Cong. of Physiol. Sci., abst. paper 208
- 19) Okamoto, S., Sato, S., Takada, Y. and Okamoto, U. (1964) An active stereoisomer (trans-form) of AMCHA and its antifibrinolytic (Anti plasminic) action in vitro and in vivo. *Keio J. Med.* **13**, 177

- 20) Norman, P. S. (1957) Studies on the plasmin system. *J. Exp. Med.*, **106**, 423
- 21) Amundsen, E., Nustad, K. and Waaler, B. (1963) A stable substrate for the assay of plasma kinin-forming enzymes. *Brit J. Pharmacol.*, **16**, 500-508
- 22) Horton, E. W. (1959) The estimation of urinary kallikrein. *J. Physiol.*, **148**, 267
- 23) Lassen, M. (1952) Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. *Acta Physiol. Scand.*, **27**, 371-376
- 24) Astrup, T. and Müllertz, S. (1951) The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochem.*, **40**, 346-351
- 25) Ling, C., Summaria, L. and Robbins, K. C. (1965) Mechanism of formation of bovine plasminogen activator from human plasmin. *J. Biol. Chem.*, **240**, 4213-4218
- 26) Kline, D. L. (1953) The purification and crystallisation of plasminogen (profibrinolysin). *J. Biol. Chem.*, **204**, 949-955



〔原著〕 血液内キニン生成機作の分析 612, 128/9

II 報・大量ストレプトキナーゼ (streptokinase) による
キニン生成機作の分析

森 口 尊 文*

Analysis of the process of kinin-formation in the intrinsic system

II. The mechanism of kinin-formation by plasmin activated with a large amount of streptokinase

Takahumi Moriguchi (*Department of Physiology, Kobe University School of Medicine*)

This second report discusses interrelationships between kinin-formation, fibrinolytic activity and TAME esterolytic activity.

When the quantity of streptokinase added to the euglobulin fraction of human serum was large, kinin was produced after the addition of pseudoglobulin fraction, even when the kallikreinogen of this fraction had been destroyed by heat. Such a mixture also exhibited TAME esterolytic activity. However, if the euglobulin fraction was heated at 56°C for 2 hours prior to the addition of a large amount of streptokinase, the mixture no longer showed TAME esterolytic activity. Concerning kinin-formation in this case, it was found that, when pseudoglobulin fraction was added to the mixture, kinin was produced but if the kallikreinogen of this fraction had been destroyed by heat there was no evidence of kinin-formation.

From the above results it is suggested that the kinin-forming property of plasmin produced by activation of plasminogen with large amounts of streptokinase may be as follows: Fibrinolytic activity of such plasmin acts in an indirect way, mediating only in the activation of the kallikreinogen in the pseudoglobulin fraction, whereas TAME esterolytic activity of such plasma acts directly in the conversion of kininogen to kinin.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 457-463〕

序 論

I 報¹⁾でのべたように、ストレプトキナーゼ (SK と略す) 活性化プラスミンは、大量 SK によって活性化された場合のみ、キニン様物質を生成する。この成績は多くの研究者の成績とよく一致する。

しかし、Vogt¹⁾によると、kininogen fraction である犬のグロブリン分画を 56°C で 2 時間加温すると、もはやプラスミン (SK が大量に用いられている) は、キニンを生成できなくなるという。すなわち、Margolis²⁾³⁾ のいう component A (kallikreinogen) がなくなれば、もはやキニノーゲンが存在してもキニンを生成することはできないと Vogt は見做した。このこと

よりプラスミンは kallikreinogen を活性化して kallikrein にし、間接的にキニンを生成するものと彼は結論している。しかし乍ら、Back and Steger⁴⁾ は、純化したプラスミノーゲンにウロキナーゼを加えて活性化したプラスミンは、純化したキニノーゲンに作用してキニンを作るという成績を提出している。すなわち、プラスミンは直接キニノーゲンに作用してキニンを作るという Vogt 以前の考えを、純化されたと思われる系を用いて再現したのである。

著者のこの研究では、上記、相互に矛盾した二見解に対し、それを統一しうる知見が追究された。すなわち、I 報にのべた如く、ユーグロブリン分画に、5,000 単位 SK を加えたものは、線溶活性と TAME 分解活性を示したが、著者は、ユーグロブリン分画をある特定の条件で、熱処理することによって、線溶活性と

* 神戸大学医学部生理学第 1 講座
〔昭和 43 年 2 月 13 日受付〕

TAMe 分解活性を分離することに成功したので、この知見を手掛りとしてさらにキニン生成系の機作の分析をすすめたので、ここに報告する。

実験材料および方法

すべて I 報¹⁴⁾に準ずる。

実験成績

I. キニン生成に関するヒト血漿因子——大量 SK の作用下における

ヒト乾燥血漿より作成したユーグロブリン分画から kininase 活性を除くために、1 N HCl で pH 2.0 にし、37°C 10分加温後、1 N NaOH で pH 7.4 に戻した。この酸処理したユーグロブリン分画溶液（ヒト血漿に比べ2倍に濃縮した溶液）0.5容に、生理的食塩水でといた 10,000 単位/ml SK 0.5 容を加え、ユーグロブリンの濃度を血中濃度と同じにし、SK の最終濃度を 5,000 単位/ml にした。このようにしてえた broader sense plasmin 0.1 容に、酸処理した犬のプソイドグロブリン分画溶液0.9容を混じ、37°C で、それぞれの時間加温後、できてくるキニン様物質の量を合成ブラディキニンによるラット子宮の収縮高と比較して測定し第1図に示した。

すなわち、broader sense plasmin は、酸処理した犬のプソイドグロブリン分画よりキニン様物質を生成する。もちろん、酸処理したユーグロブリン分画溶液、酸処理したプソイドグロブリン分画溶液のみ、または 5,000 単位 SK を加えたものおよび、酸処理したユーグロブリン分画溶液とプソイドグロブリン分画溶液の混合物は、この反応時間内では、キニン様物質の活性を示さなかった。

ところで、ユーグロブリン分画、およびプソイドグロブリン分画を酸処理することは、種々の問題を含む。Elliott and Lewis⁵⁾ の実験どおり、プソイドグロブリン分画を使用直前ではなく、前日に酸処理すると、そのものだけで始めからキニン様物質を認めた。また、この実験系

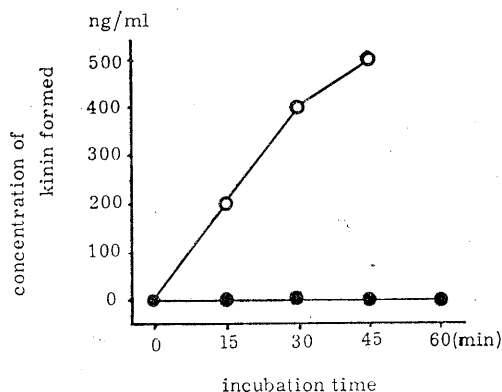


Fig. 1. Kinin-formation in various mixtures of acid-treated pseudoglobulin fraction, acid-treated euglobulin fraction and SK, after incubation at 37°C. O—O—O Mixture : 0.1 ml acid-treated euglobulin fraction, with 5,000 u SK added, plus 0.9 ml acid-treated pseudoglobulin fraction. ●—●—● Mixture : 0.05 ml acid-treated euglobulin fraction alone plus 0.95 ml saline ; Mixture 0.9 ml acid-treated pseudoglobulin fraction alone plus 0.1 ml saline ; Mixture : 1.0 ml acid-treated pseudoglobulin fraction with 5,000 u SK added ; and Mixture : 0.9 ml acid-treated pseudoglobulin fraction and 0.05 ml acid-treated euglobulin fraction and 0.05 ml saline. Isolated rat uterus was used to estimate the bradykinin concentration of a 0.1 ml sample of each mixture.

で、反応時間を3時間ないしは4時間に延長すると、酸処理したプソイドグロブリン分画だけで、キニン様物質の活性を認めた。しかし、反応時間が、2時間までの場合には、この活性は見られなかった。このことより、本実験程度の時間では、酸処理プソイドグロブリン分画に含まれるカリクレイノーゲンがカリクレインに変化する量⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾は少ないものと思われる。

次に、ユーグロブリン分画であるが、Webster and Pierce¹⁰⁾ の論文によれば、ユーグロブリン分画に混じるカリクレイノーゲンの量は15~25%である。本論文での実験系において、ユーグロブリン分画の混じられる量は、10分の1量であるため、反応物におけるユーグロブリン分画からのカリクレイノーゲン量は非常に少ないものになる。そのため、大量のSKが加えられることによって、プラスミンができ、Vogt の説の

ように、これがカリクレイノーゲンに働いてカリクレインになったとしても、その量は、キニンノーゲン分画に含まれると考えられるカリクレイノーゲン50に対し、ユーグロブリン由来のカリクレイノーゲンは1である。このため、ユーグロブリン内で、カリクレイノーゲンがたとえ活性化されたとしても、問題にならない程、少量になると考えられる。

Ⅱ. TAME 分解活性, および, 線溶活性の分離——大量 SK 作用下における

血液内と同じ濃度に調整した、ユーグロブリン分画溶液に 5,000 単位/ml SK を加えたもの (broader sense plasmin) は、線溶活性, および TAME 分解活性を有している。もし、この二つの活性を分離することができれば、Ⅰ報¹⁴⁾において、問題として残っていた 5,000 単位 SK

によるもの (broader sense plasmin) のキニン生成能が、そのどちらに由来するかがわかる筈である。そのため、この両活性をわける目的で、ユーグロブリン分画溶液を 56°C で加熱した。すなわち、ヒト乾燥血漿より作成したユーグロブリン分画溶液 (血液内濃度の 2 倍に調整した) を 56°C 温浴槽でそれぞれの時間、加温した後、前記の如く酸処理した。このユーグロブリン分画溶液 0.5 容に 10,000 単位/ml SK 溶液 0.5 容を加え、線溶活性, および TAME 分解活性を測定した。

測定方法はⅠ報と同じく、線溶活性は加熱フィブリン平板法, TAME 分解活性は Troll et al.¹¹⁾ の方法にしたがう。

表 1, 図 2 に示す如く、線溶活性は 56°C で熱処理する時間が 2 時間の値までは、ほとんど

Table 1. Fibrinolytic activity of euglobulin fractions incubated at 56°C before acid-treatment and addition of 5,000 u SK

	Incubation time at 56°C (min)					
	0	20	40	60	120	180
Fibrinolytic activity as estimated by area of lysis (mm ²) of heated fibrin plates	64	64	64	64	56	25 (±)
	64	64	64	64	56	25 (±)

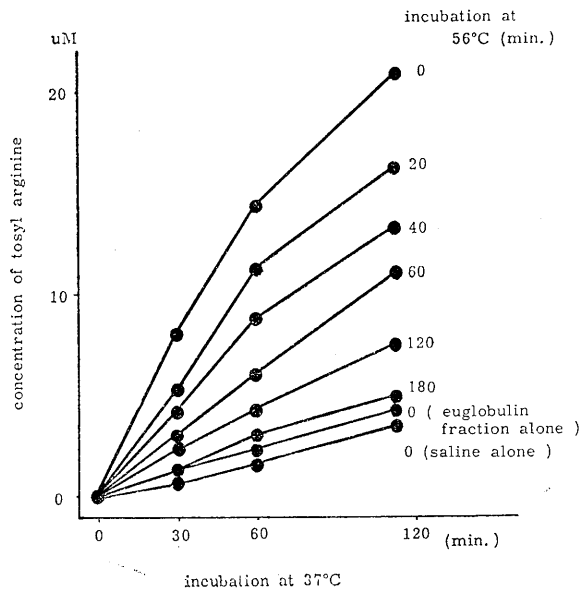


Fig. 2. TAME esterolytic activity of euglobulin fractions incubated at 56°C before acid-treatment. Addition of 5,000 u. SK and incubation at 37°C.

その活性は落ちないのに対し、TAME 分解活性は、徐々にその活性を失う。この活性の推移を無処置のそれを 100 として、パーセントで示すと図 3 の成績がえられた。

図 3 から、明らかな如く、56°C での熱処理時間が、2 時間の値では、線溶活性が充分に残り、しかも、TAME 分解活性がほとんどない

部分をうることができる。すなわち、ユーグロブリン分画を 56°C で 2 時間加熱したものに、5,000 単位/ml SK を加えたものは、線溶活性が充分にあつて、しかも TAME 分解活性のほとんどない標本をうることができる。

Ⅲ. キニン生成系諸因子の個別的除去——キニン生成能におよぼす影響

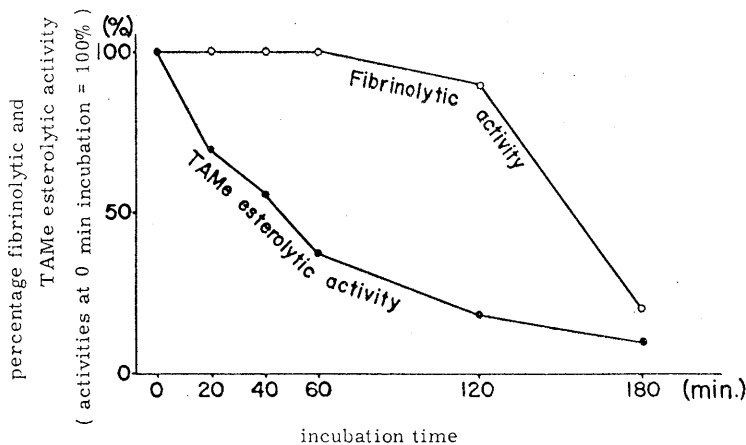


Fig. 3. Changes in fibrinolytic and TAME esterolytic activity of euglobulin fractions incubated at 56°C before acid-treatment and addition of 5,000 u. SK.

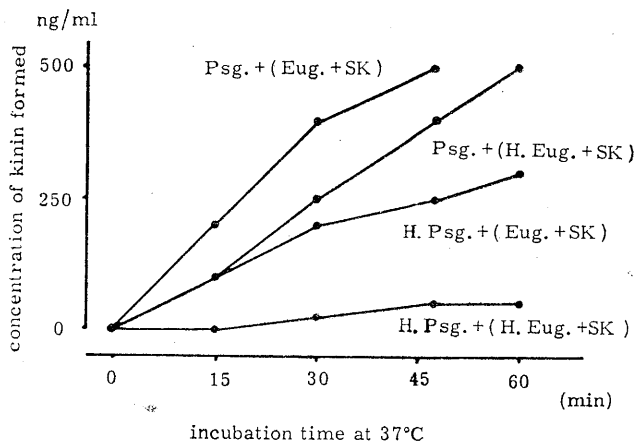


Fig. 4. Kinin-formation in variously prepared mixtures of pseudoglobulin fraction, euglobulin fraction and SK, with and without heating of components at 56°C. (a) Psg. + (Eug. + SK): mixture of 0.1 ml acid-treated euglobulin fraction with 5,000 u SK added, and 0.9 ml of acid-treated pseudoglobulin fraction. (b) Psg. + (H. Eug. + SK): as (a), but with the euglobulin fraction heated at 56°C for 2 hours before addition of SK. (c) H. Psg. + (Eug. + SK): as (a), but with the pseudoglobulin fraction pre-heated at 56°C for 2 hours. (d) H. Psg. + (H. Eug. + SK): as (b), but with the pseudoglobulin fraction also pre-heated at 56°C for 2 hours. Isolated rat uterus was used to estimate the bradykinin concentration of a 0.1 ml sample of each mixture.

Vogt¹⁾は、基質であるイヌのグロブリン分画を 56°C で、2 時間加熱したもの、プラスミンによっては、キニンを生成しないという成績を示した。それゆえ、本実験においても、基質であるイヌのプソイドグロブリン分画を 56°C、2 時間加熱した後、キニン様物質が生成されてくるかどうかをしらべた。実験方法は、図 1 と同じく、基質溶液 0.9 容に対し、酵素溶液 0.1 容を混じ、37°C でそれぞれの時間反応したものを合成ブラディキニンのラット子宮の収縮高と比較したものである。

図 4 からわかるように、プソイドグロブリン分画を熱処理しても、熱処理していないユーグロブリン分画に 5,000 単位/ml SK を加えたものはキニン様物質を生成するが、熱処理したユーグロブリン分画に 5,000 単位/ml SK を加えたものは、キニンを生成しなかった。しかし、熱処理したユーグロブリン分画に 5,000 単位/ml SK を加えたものでも、プソイドグロブリン分画を熱処理していない場合には、キニン様物質を生成することができた。

熱処理していないユーグロブリン分画に、5,000 単位/ml SK を加えたものは、Vogt の結果とは反対に、キニン様物質を生成した。Vogt の用いたプラスミン標本は、Ronwin¹³⁾ の方法によって純化したプラスミノゲン標本であるが、この純化課程において、60°C 20 分の熱処理がある。本実験において、用いたユーグロブリン分画を同じように、60°C 20 分熱処理して 5,000 単位/ml SK を加えると、線溶活性は未だ 93% 存在するが、TAMe 分解活性は 22% に減少する。丁度本実験に用いた 56°C、2 時間熱処理した標本とほとんど同じものである。そのため、この反応は、キニン活性を示さなかったのであろう。しかし、熱処理することによって、ユーグロブリン分画に混じっていた TAMe 分解前駆物質が消失したのか、プラスミノゲンが変性して、TAMe 分解活性をなくしたが、未だ線溶活性を残していたのかは、純化した系を用いないかぎり結論づけることはできない。しかし Kline の方法で純化したプラスミノゲ

ンに大量 SK を加えた純化した系を用いた場合でも TAMe 分解活性は生じてくる¹¹⁾。

考 察

I 報¹⁴⁾で述べたように、ユーグロブリン分画溶液（血漿と同じ濃度に溶解した）に 5,000 単位/ml SK を加えた、broader sense plasmin はキニン様物質を生成する。しかし、broader sense plasmin には、線溶活性と TAMe 分解活性が共存する。このどちらがキニン様物質を生成するかについてはわからなかった。

本研究では、broader sense plasmin の線溶活性と TAMe 分解活性を分離することができた。すなわち、ユーグロブリン分画を 56°C 2 時間加熱したものに 5,000 単位/ml SK を加えたものは、線溶活性は存在するが、もはや TAMe 分解活性は、消失してしまう。このように熱処理したユーグロブリン分画溶液に 5,000 単位/ml SK を加えたものをプソイドグロブリン分画に加えてみると未だキニン様物質を生成する。しかし、Vogt の報告の如く、基質を 56°C、2 時間熱処理したものは、もはやキニンを生成しなくなる。ただし、熱処理した基質を用いても、熱処理しないユーグロブリン分画で作られた broader sense plasmin は、Vogt の成績とは、反対に、キニン様物質を生成した。Margolis²⁾³⁾、Eisen¹²⁾、Vogt¹⁾ がいうようにプソイドグロブリン分画を熱処理した時、不活性化される因子が、カリクレイノーゲンであるならば、図 4 の実験は、次のような因子の組み合わせとして書きなおすことができる。

この表からわかるように、プソイドグロブリン分画に含まれるカリクレイノーゲンがなくなっても、broader sense plasmin の TAMe 分解活性があれば、キニンを生成する。しかし、TAMe 分解活性もなくなり、線溶活性だけでは、キニンを生成することができない。すなわち、線溶活性がキニンを生成するためには、カリクレイノーゲンが必要になってくる。これらのことより、次のような図式が生れてくる。

この図式は、線溶活性カリクレイノーゲンを

介して、間接的にキニンを生成することを示している。しかし、この線溶活性は大量 SK によるもので、小量 SK による narrow sense plasmin の線溶活性は、第 I 報の如く、基質に熱処理していないブソイドグロブリン分画を用いているので、カリクレイノーゲンを介してもキニン様物質を生成しないのである。この線溶活性の差については、未だ問題が残る。加熱フィブリン平板法では、 10^{-2} M trans-AMCHA は、前者に無効であるが、後者は完全に抑制する。また、このカリクレイノーゲンを介するキニン様物質の生成に対して、 10^{-2} M trans-AMCHA は無効であった。

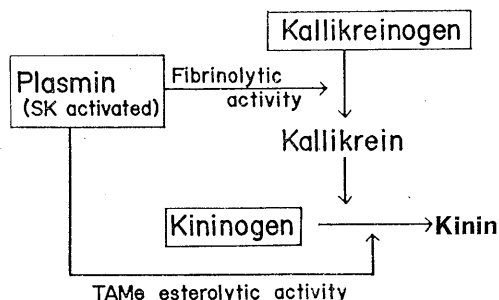
では何故、Vogt¹⁾ がプラスミンはカリクレイノーゲンを介してのみキニンを生成するという成績をえたのか。実験成績の項でのべたように、Vogt が用いたヒト・プラスミンは、Ronwin¹³⁾ の方法にしたがって作られた。この方法ではプラスミノーゲンを作る過程で 60°C 20 分加熱している。丁度、本研究で用いた加熱したユーグロブリン分画と同じものと考えられる。そのため、本研究の成績と同じく、加熱した基質からは、キニン様物質の生成はみられなかったのであろう。その結果、broader sense plasmin の TAME 分解活性により、直接キニノーゲンに作用する系がみすごされたと思われる。

次に Back and Steger⁴⁾ の成績であるが、プラスミノーゲンを活性化するウロキナーゼの量は、相当大量 (400 単位/ml) である。そのため、このプラスミンは、線溶活性と同じく、TAME 分解活性も充分に有している。このように TAME 分解活性が存在するプラスミン、すなわち、I 報にいう、broader sense plasmin の場合は本研究より当然、直接キニノーゲンに作用してキニンを生成すると考えられる。しかし、もし Back and Steger が用いたプラスミ

Table 2.

	add. SK	Kinin forming activity	Kalli-kreinogen (Psg)	TAME esterolytic activity (Eug)	Fibrinolytic activity (Eug)	Kininogen (Psg)
Psg.	Eug		+	+	+	+
H.Psg.	Eug		—	+		
Psg.	H.Eug		+	—		
H.Psg.	H.Eug		—	—		

Table 3.



ンの TAME 分解活性と線溶活性を分離しえたならば、その線溶活性は、Back の用いたキニノーゲンに作用して、キニンを生成するかいなかについては、本研究の成績から、このキニノーゲンにカリクレイノーゲンが混じっていなければ、キニンは生成しなかったものと考えられる。

総 括

1. ヒト乾燥血漿より作製したユーグロブリン分画溶液 (血漿と同じ濃度に溶解) を、 56°C 、2 時間、加熱したものに 5,000 単位/ml SK を加えたものは、線溶活性は未だ充分に存在するが、TAME 分解活性は殆んど消失する。

2. この加熱したユーグロブリン分画溶液に 5,000 単位/ml SK を加えたものは、イヌのブソイドグロブリン分画よりキニン様物質を生成する。しかし、ブソイドグロブリン分画溶液を 56°C 、2 時間加熱すると、もはやキニン様物質

を生成しなくなる。

3. しかし、加熱したプソイドグロブリン分画でも、TAMe 分解活性を有する大量 SK を加えたユーグロブリン溶液を作用させたものは、未だ、キニン様物質を生成する。

4. 上記の成績に基き、キニン生成系の一図式が討論された。

稿を終るにあたり、御懇篤な御指導、御校閲を賜った岡本彰祐教授に深甚なる謝意を捧げると共に、終始、ご鞭撻ご助力をいただいた金城清勝助教授始め、大柴、美原両講師に深謝し、あわせて教室員各位のご協力を心より感謝いたします。

文 献

- 1) Vogt, W. (1964) Kinin-formation by plasmin, an indirect process mediated by activation of kallikrein. *J. Physiol.*, **170**, 153-166
- 2) Margolis, J. (1958) Activation of plasma by contact with glass: evidence for a common reaction which releases plasma kinin and initiates coagulation. *J. Physiol.*, **144**, 1-22
- 3) Margolis, J. (1960) The mode of action of Hageman factor in the release of plasma kinin. *J. Physiol.*, **151**, 238-252
- 4) Back, N. and Steger, R. (1965) Activation of bovine bradykininogen by human plasmin. *Life Sciences*, **4**, 153-157
- 5) Elliott, D. F. and Lewis, G. P. (1965) Methionyl-lysyl-bradykinin, a new kind from ox blood. *Biochem. J.*, **95**, 437-447
- 6) Kraut, H., Frey, E. K. and Werle, E. (1933) Über den Nachweis und das Vorkommen des Kallikreins in Blut. VIII. Mitteilung. *Hoppe-Seyl. Z.*, **222**, 74-99
- 7) Habermann, E. and Okon, M. E. (1961) Identifizierung eines "spontan" aus Serumglobin entstehenden Peptides mit Bradykinin. *Hoppe-Seyl. Z.*, **326**, 171-173
- 8) Habermann, E. (1963) Snake venoms, kallikreins, and kininogen. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **104**, 46
- 9) Webster, M. E. and Pierce, J. V. (1963) The nature of the kallidins released from human plasma by kallikreins and other enzymes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **104**, 91
- 10) Webster, M. E. and Pierce, J. V. (1960) Studies on plasma kallikrein and its relationship to plasmin. *J. Pharm. Exp. Therap.*, **130**, 484-491
- 11) Troll, W., Sherry, S. and Wachman, T. (1954) The activation of plasmin on synthetic substrates. *J. B. C.*, **208**, 85-93
- 12) Eisen, V. (1963) Observation on intrinsic kinin-forming factors in human plasma: The effect of acid, acetone, chloroform, heat and euglobulin separation on kinin formation. *J. Physiol.*, **166**, 496-513
- 13) Ronwin, E. (1962) Properties of human plasmin. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **40**, 49-55
- 14) 森口尊文(1968) 血液内キニン生成機作の分析 I 報 ストレプトキナーゼ (streptokinase) によるキニン生成の条件 日本生理誌 **30**, 446-456

〔原著〕 肝胆汁に於ける Bilokinase (Bile plasminogen-activator)

の実験生理学的追求 612.357 : 612.015.1

福 本 龍*

Physiological studies on plasminogen-activator (bilokinase) found in hepatic bile of dogs

Ryu Fukumoto (*Department of Physiology, Kobe University School of Medicine*)

Studies by Oshiba and Hata in 1963 revealed the existence of plasminogen activator (tentatively named bilokinase) in gall-bladder bile of dogs. The present studies deal with physiological aspects of the bilokinase found in hepatic bile of dogs. The results obtained can be summarized as follows.

1. The bilokinase activity in hepatic bile was several times higher than that in gall-bladder bile, suggesting an hepatic or pre-hepatic origin for bilokinase.

2. The intra-splenic administration of CCl_4 to dogs caused a marked decrease in bile flow, associated with broad necrosis of the liver. High bilokinase activity in hepatic bile, however, was still maintained.

3. The intravenous administration of acetazolamide to inhibit carbonic anhydrase resulted in a marked increase in bile flow and an obvious decrease in the bilokinase activity of hepatic bile.

4. The intravenous administration of sodium taurocholate caused the most outstanding increase in bile flow in this series of experiments, but little decrease in the bilokinase activity of hepatic bile.

5. The intravenous administration of saponin caused an increase in bile flow, but little decrease in the bilokinase activity of hepatic bile.

The results obtained can be reasonably understood by assuming that the origin of bilokinase is pre-hepatic, and may well be associated with the regulation mechanism of the electrolytes in the blood.

[J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 464-471]

序 論

Plasminogen activator は、生体内に不活性な状態で存在する plasminogen を活性の plasmin に転化せしめて線溶現象を惹起する。この activator は、血液はもちろん、尿などのほか、各種臓器中にも発見される。しかしながら胆汁内における plasminogen activator に関しては、その測定技術の困難さのために、存否が討論されてきた。すなわち、1960年 Oleson¹⁾ はモルモットの血清が、胆汁酸塩の作用により plasmin 活性を示すことを認め、胆汁酸塩そのものに plasminogen activator 作用があるとした。同年 Fleming and Norman²⁾ もまた、胆

汁酸塩の fibrin 溶解は non-enzymatic lysis であり、activator とは認められない、との見解を示した。しかしながら1963年大柴および畑³⁾⁴⁾ は Ca 添加 fibrin を基質として研究し、イヌおよびカイウサギの胆汁内に、しかも胆汁酸塩の作用とは別に、plasminogen activator の存在することを見出した。さらに1967年畑⁵⁾ は、イヌおよびカイウサギの胆嚢胆汁内より activator 作用を持つ因子を Sephadex 等を使用して分離することに成功した。畑によると、この因子の至適 pH は6~8、易熱性であるという。これらの知見に基き、この因子は“bilokinase”と名づけられた。

これに引きつづき、著者はこの bilokinase の由来およびその生理的意義を研究し、その分泌調節機構の一端を示す若干の知見をえたので、ここに報告する。

* 神戸大学医学部生理学第1講座

〔昭和43年2月29日受付〕

実験方法

I. 実験材料

A. 肝胆汁

5~10 kg の成犬に sodium pentobarbiturate 静脈麻酔後開腹する。まず胆嚢胆汁の影響を避けるため、胆嚢胆管を結紮したのち、総胆管中央部より内径 1 mm のポリエチレンチューブを胆嚢胆管分岐部を越える位置にまで挿入した。約10分間は胆嚢胆汁の混入のおそれがあるためこれを捨て、以後分泌する胆汁を10分間隔で分画採取し実験に供した。必要に応じて各種薬剤の股静脈よりの点滴注入、もしくは経脾注入を行ない、胆汁分泌速度、およびその bilokinase 活性におよぼす影響を観察した。なお、胆汁標本中に血液混入の認めたものは実験より除外した。

B. 薬剤

1. Carbon tetra-chloride (CCl_4): 和光純薬製を用い、0.2 ml/kg (体重) を脾内に注入した。

2. Acetazolamide: 日本レダリー K. K. の Diamox 末を純水に溶解して 0.25% 液とし、65 mg/kg になるよう点滴静注した。

3. Sodium taurocholate: Difco 社製の純末を純水にて 0.5% 液とし、10 mg/kg の割合で点滴静注を行なった。

4. Saponin: E. Merck 社製 saponin 純末を 50 mg/kg の割合で使用した。純水にて 0.5% 液とし点滴静注を行なった。

C. Fibrin 平板作製

1. Fibrinogen: 第一化学薬品 K. K. 提供によるウシの fibrinogen を平板 1 枚当たり 50 mg 使用した。

2. Thrombin: ミドリ十字社製のヒトトロンビンを生理的食塩水にて 20 u/ml に稀釈、平板 1 枚当たり 0.5 ml 使用した。

3. CaCl_2 : 胆汁酸塩による単純溶解を阻止するため、平板内の最終濃度 0.01 M になるよう borate saline buffer 内に溶解使用した。

II. Fibrin 平板による plasmin 活性値測定 Astrup⁶⁾ の方法による fibrin 平板内に CaCl_2 を加えることにより、胆汁中の胆汁酸塩による溶解を阻止し、肝胆汁における activator 活性の測定を行なった。この CaCl_2 加標準 fibrin 平板に被検液 0.03 ml をピペットにて滴下、37°C にて 18~20 時間加温後の溶解面積を長径×短径の mm^2 で表現した。

実験成績

I. 肝胆汁の bilokinase

自然流出時における肝胆汁流量、およびその fibrinolytic activity (bilokinase 活性) を13頭のイヌについて検討した。

A. 肝胆汁流量

第1表に示す如く、肝胆汁流量は1分間当たり平均 0.053 ± 0.028 (S. D.) ml である。すなわち個体差は相当大きく、ばらつきは10倍におよんだ。

B. 肝胆汁 bilokinase 活性 (胆嚢胆汁との比較)

肝胆汁の bilokinase 活性は、肝胆汁 0.03 ml を CaCl_2 加標準 fibrin 平板に滴下してえた溶解面積で示した。最小 278 mm^2 、最大 1,080 mm^2 、平均 $593.8 \pm 217.2 \text{ mm}^2$ という非常に大きな値であるが個体差も大きい (第1表)。しかし、この値は他の体液および組織 activator よりも一般にはるかに大きい。また畑⁵⁾ によるイヌの胆嚢胆汁の bilokinase 活性80~100 mm^2 という値の数倍以上におよんでいることが注目される。

C. 肝胆汁 bilokinase 活性と流量との相関

上記実験各例における肝胆汁の bilokinase 活性と肝胆汁流量との関係は、第1図に示す如くである。

Table 1. Flow of and bilokinase activity in hepatic bile (13 dogs)

Bile flow (ml/min)	Mean 0.053 ± 0.028 (S. D.) (Range 0.012~0.125)
Bilokinase activity (mm^2)	Mean 593.8 ± 217.2 (S. D.) (Range 278.0~1,080.0)

肝胆汁流量が少い時, bilokinase 活性は比較的高値を示し, 流量が大きくなると, bilokinase 活性は比較的低値を示す, という相関がわずかながら認められた。

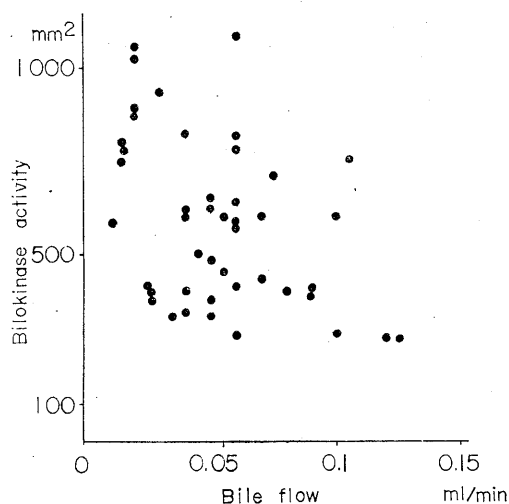


Fig. 1. Bilokinase activities plotted against bile flow in 45 samples of hepatic bile obtained from 13 dogs. Abscissa indicates bile flow in ml per minute and ordinate, fibrinolytic activities expressed as the product of perpendicular diameters (mm^2) of lysed areas.

II. 肝細胞に変化を与えた場合

4頭のイヌにおいて carbon tetra-chloride (CCl_4) を 0.2 ml/kg の割合で脾内注入を行なった。約5分後には肝は出血を伴う肝細胞壊死の状態を呈した。同時に肝胆汁流量は急速に低下する。Bilokinase 活性は幾分注射前より低値を示すものの, なお平均 635.3 mm^2 という高値を維持している (第2表)。

第2図は sodium taurocholate 投与後に, CCl_4 を注入した1例の bilokinase 活性の動きを見たものであるが, 肝胆汁流量は sodium taurocholate 投与時に著明に増量を示し, CCl_4 投与後直ちに低下している。にもかかわらず, bilokinase 活性の値に見るべき変動を示したとは見なしにくい。

Table 2. Flow of and bilokinase activity in hepatic bile after intra-splenic injection of carbon tetrachloride (4 dogs).

	Untreated	After injection
Bile flow (ml/min)	0.055 ± 0.030 (S. D.)	0.037 ± 0.013 (S. D.)
Bilokinase activity (mm^2)	835.8 ± 151.2 (S. D.)	635.3 ± 166.1 (S. D.)

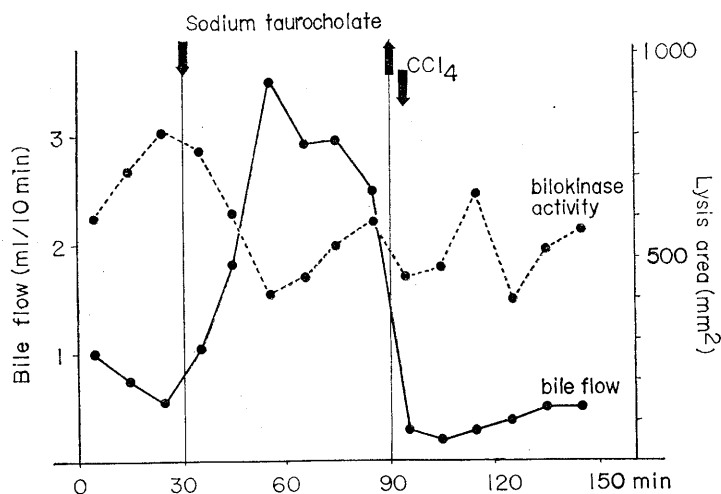


Fig. 2. Effect of sodium taurocholate and CCl_4 on flow (solid line) and bilokinase activity (broken line) of hepatic bile. Downward arrows indicate commencement of administration; upward arrow, its completion. Ordinate indicates (1) bile flow in ml per 10 minutes, (2) lysed area mm^2 on standard fibrin plates containing 0.01 M CaCl_2 and abscissa time course.

Ⅲ. 胆汁成分に肝前性に変化を与えた場合

A. Acetazolamide 投与

血液中、ひいては胆汁中の水分および電解質組成の変動をおこす物質が、肝胆汁の bilokinase 活性におよぼす影響を観察するため、acetazolamide を用いた。実験開始後 30~40 分間、肝胆汁を自然に流出させたのち、股静脈より acetazolamide を 0.25% 液とし、65 mg/kg の割合で 60 分間点滴静注を行なった。肝胆汁流量は投与前に比較して 2.2 倍の増量を示す。bilokinase 活性はこれに反し、約 35% の低下を示した (第 3 表)。

第 3 図は acetazolamide 投与時の肝胆汁流量と、bilokinase 活性値との時間的経過を示したものであり、肝胆汁流量の増大と、それに対する bilokinase 活性値の低下が認められる。

Table 3. Flow of and bilokinase activity in hepatic bile after intravenous administration of acetazolamide (1 dog)

	Untreated	After injection
Bile flow (ml/min)	0.014 ± 0.002 (S. D.)	0.031 ± 0.006 (S. D.)
Bilokinase activity (mm ²)	702.0 ± 106.2 (S. D.)	451.7 ± 86.1 (S. D.)

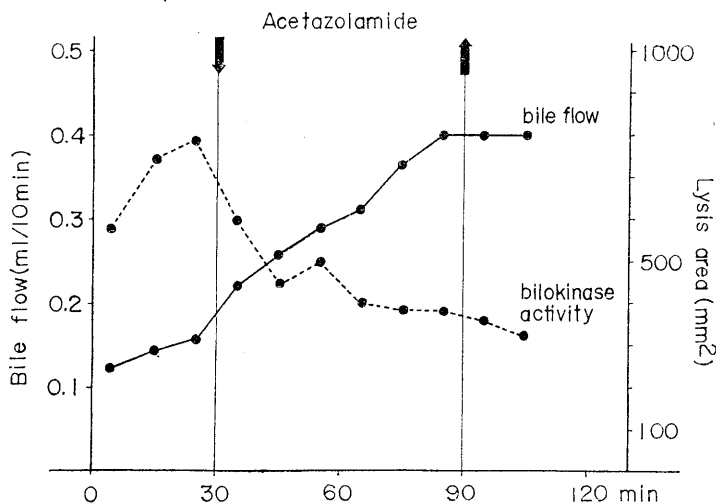


Fig. 3. Effect of acetazolamide on flow (solid line) and bilokinase activity (broken line) of hepatic bile.

B. Sodium taurocholate 投与

胆汁および胆汁酸塩分泌の促進が、肝胆汁の bilokinase 活性におよぼす影響を見るため、sodium taurocholate を用いた。Sodium taurocholate を 0.5% 液とし、10 mg/kg の割合で 60 分間点滴静注を行なった際の肝胆汁流量は、犬 4 頭全例において著明に増量し、自然流出時の約 2.7 倍に達した。この間の bilokinase 活性は不変もしくは僅に低値を示した (第 4 表)。

このうちの 1 例を第 4 図に示したが、肝胆汁流量の急激な増量と bilokinase 活性の漸減が認められた。

C. Saponin 投与

Saponin の赤血球崩壊作用を利用し、溶血を起す目的で saponin を用いた。0.5% 液にて 50 mg/kg の割合で 60 分間点滴静注を行なった。イヌは約 10 分後に呼吸困難に陥るがチアノーゼは不明である。肝胆汁流量は 3 例中 2 例において増加し、この場合 bilokinase 活性はこれに比して減少の傾向を示す (第 5 表)。

第 5 図は saponin 投与 3 例中、肝胆汁流量の増大の認められた 1 例の時間的経過を示したもので、やはり肝胆汁流量の増大と、これに対する bilokinase 活性値の低下を認める。

Table 4. Flow of and bilokinase activity in hepatic bile after intravenous administration of sodium taurocholate (4 dogs)

	Untreated	After injection
Bile flow (ml/min)	0.066 ± 0.024 (S. D.)	0.176 ± 0.075 (S. D.)
Bilokinase activity (mm ²)	633.5 ± 187.5 (S. D.)	512.4 ± 136.1 (S. D.)

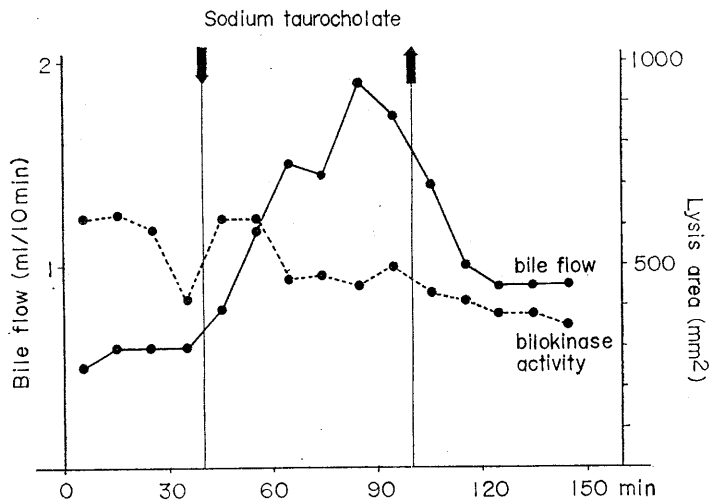


Fig. 4. Effect of sodium taurocholate on flow (solid line) and bilokinase activity (broken line) of hepatic bile.

Table 5. Flow of and bilokinase activity in hepatic bile after intravenous administration of saponin (3 dogs)

	Untreated	After injection
Bile flow (ml/min)	0.034 ± 0.015 (S. D.)	0.040 ± 0.015 (S. D.)
Bilokinase activity (mm ²)	534.0 ± 138.7 (S. D.)	483.0 ± 194.8 (S. D.)

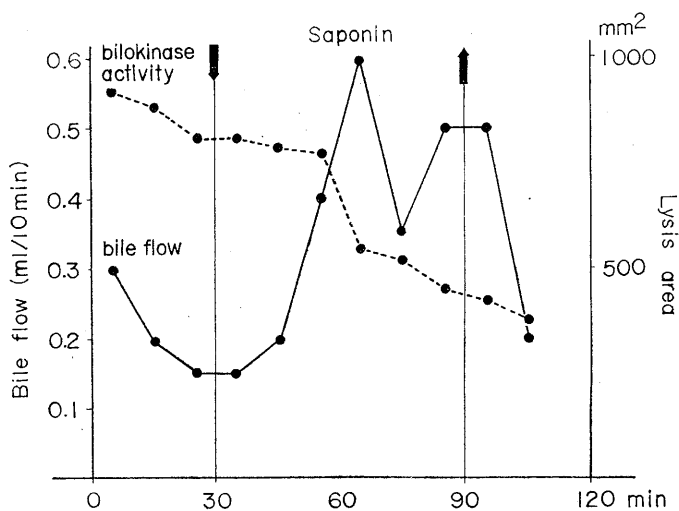


Fig. 5. Effect of saponin on flow (solid line) and bilokinase activity (broken line) of hepatic bile.

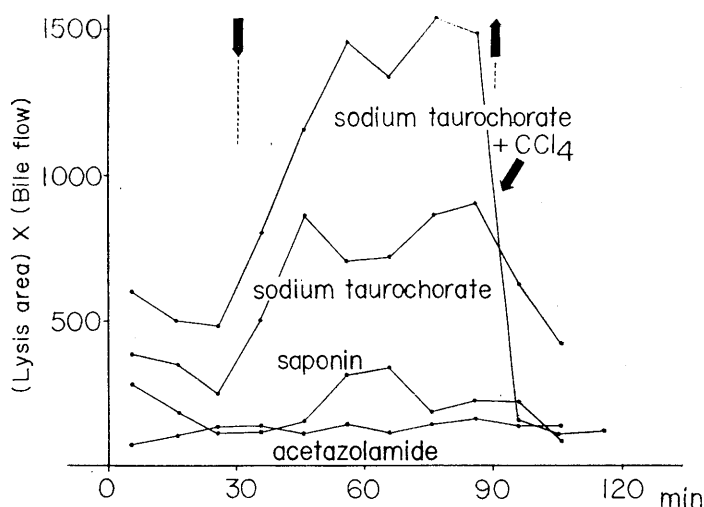


Fig. 6. Total activities of bilokinase with different agents. Ordinate indicates the total activities of bilokinase, i. e. (lysis area) $\times$ (bile flow), and abscissa time course. Downward arrow indicates commencement of administration and upward arrow its completion.

Ⅳ. Bilokinase の排泄総量

便宜上、10分間の肝胆汁流量と、その間の0.03 ml の bilokinase の活性値との積を bilokinase の排泄総量とした。上記各薬剤投与時における bilokinase の排泄総量の変動を示したのが第6図である。

CCl_4 投与時および sodium taurocholate 投与時においては、単位容量中の bilokinase 活性値は、肝胆汁流量の増減に関係なく、ほぼ一定の値を維持するため、bilokinase の排泄総量は肝胆汁流量に比例し、 CCl_4 投与時には著明な減少、sodium taurocholate 投与時には激増する。一方、acetazolamide 投与および saponin 投与時においては、肝胆汁流量の増大に反して単位容量中の bilokinase 活性値は低下するため、bilokinase の排泄総量に著変は認められない。

考 案

大柴、畑がイヌおよびカイウサギの胆嚢胆汁中に見出した plasminogen activator (bilokinase) の由来を検討するうち、著者はイヌの肝胆汁中に、さらに強力な bilokinase 活性が存在することを見出した。 CaCl_2 加標準 fibrin 平板において、平均 593.8 mm^2 の lysis area を示す

activator の局在は、血液、組織内にほとんどその類を見ないとして過言ではない。たとえば同じ体液性 activator である urokinase の尿中活性よりも強力であることが注目されよう。

1. Bilokinase の由来

著者の研究により、肝胆汁は胆嚢胆汁よりも数倍 bilokinase 活性の強いものであることが示された。このことは、少なくとも胆嚢は bilokinase の破壊に働くが、その生成に関与するものでないことを支持し、bilokinase の由来が恐らくは肝または肝前性のいずれかのものである可能性を示唆する。

上記の第1の可能性、すなわち胆汁の主要成分である胆汁酸、胆汁色素、cholesterol 等が肝細胞もしくは肝内網内系で生成分泌される如く、bilokinase もまた肝内で生成される可能性について討論をすすめてみる。Astrup の組織 activator 抽出法によっては、肝内の組織 activator は抽出されていない。Albrechtsen^{7,8)} は正常肝に plasminogen activator が存在しないことを指摘し、Todd⁹⁾ もまた同様の結果を報告した。著者もまた、イヌの正常肝における組織 activator 抽出を 0.15 M KCl, 2 M KCl, 2 M KSCN によって試みたが、いずれもその

存在を認めなかった。しかし肝硬変など肝線維化の進んだ症例において、病変肝内に組織 activator が見出されているし (Astrup¹⁰⁾、一方 Lack¹¹⁾ はカイウサギおよびマウスの正常肝の lysosome 分画内に plasminogen activator を見出した。これに引きつづき、Sugiyama¹²⁾ はラットの肝細胞顆粒を高濃度塩溶液によって activator 抽出を行ない、lysosome および microsome 分画より組織 activator の存在を確認した。Sugiyama and Okamoto¹³⁾ は組織 activator を bound form と free form とに分類し、bound form は細胞内顆粒と結合して immature であり、mature な free form へ移行しようとしたが、このようなことから、正常肝細胞内に存在する組織 activator は bound form であると思はれる。しかし量的には僅少のものであるから肝の組織 activator をこの強力な bilokinase と関連して考慮するのは少しく困難である。

ここで問題になるのは肝の plasmin inhibitor の存在である。Macfarlane¹⁴⁾ はヒトの正常肝組織中に plasmin inhibitor の存在することを主張し、Kaulla¹⁵⁾ は血中線溶能に対して正常肝は強力な抑制作用を示すことを認め、肝が線溶系に対して抑制的に働いていると述べている。Plasmin inhibitor のために、肝の組織 activator 検出が困難である可能性も、この際考慮しておくべきであろう。

さらに、CCl₄ 投与は肝を広範囲に出血を伴う肝細胞壊死の状態をもたらし、胆汁分泌量を著しく低下させる (第2図)。にも拘らず単位容量中の bilokinase 活性値は依然として不変である。このことは、主要肝機能と bilokinase 活性とは無関係であることを示すものである。

次に炭酸脱水素酵素の抑制剤である acetazolamide を投与した実験は、胆汁分泌量の著明な増加に対し、単位容量中の bilokinase 活性の明らかな減少を示している (第3表、第3図)。Wheeler and Ramos¹⁶⁾ が acetazolamide 静注時における胆汁中の電解質組成の変化、すなわち Na⁺、K⁺ は減少、HCO₃⁻ および Cl⁻ は増

加する等の成績を示していることなどより、bilokinase 分泌調節機構は電解質の調節機構と、かなり密接な関連性をもつことが示唆されよう。

以上の実験成績、ならびに上述の諸家の主張を考慮し、著者は bilokinase の由来は、恐らくは肝前性であり、血液もしくは組織に依存することを示唆する。

II. Bilokinase と胆汁酸塩

Sodium taurocholate 投与により、胆汁および胆汁酸塩分泌を促進した際、単位容量中の bilokinase 活性に大した変動はなく (第4図)、したがって排泄総量のみに変動が見られた (第6図)。また acetazolamide 投与時には胆汁分泌の促進にも拘らず、単位容量中の bilokinase 活性は明らかな低下を示す (第3図)、排泄総量は不変である (第6図)。Wheeler and Ramos¹⁶⁾ によれば、acetazolamide 投与時には、胆汁分泌量の増加に対し、sodium taurocholate の濃度は減少するが、その分泌総量には変動がないとしている。このことは sodium taurocholate および acetazolamide 投与時に見られる bilokinase 活性値の変動と、sodium taurocholate の排泄総量の変動は、一面相関々係にあると考えてよく、したがって bilokinase と胆汁酸塩との生成過程がかなり近縁のものである可能性を示す。

III. Bilokinase と溶血現象

Saponin 投与によって溶血を促進した場合、胆汁分泌は増加するが、単位容量中の bilokinase 活性は低下の傾向を示し bilokinase の単位時間中に排泄される総量は著変を示さない。このことは bilokinase の生成機転が溶血現象と無関係であることを示すものであろう。

結 語

著者はイヌの肝胆汁中に強力な fibrinolytic activity (bilokinase 活性) の存在するのを見出しこの bilokinase について生理学的研究を行ない、次の如き結果をえた。

1. 肝胆汁の bilokinase 活性は、胆嚢胆汁中

の bilokinase 活性よりも数倍高い値を示す。このことは, bilokinase の由来が肝, もしくは肝前性のものであることを示唆する。

2. CCl_4 の脾内注入は, 肝胆汁流量を急激に減少させるにもかかわらず, bilokinase 活性値に大した変動は見られない。

3. Acetazolamide の点滴静注時における肝胆汁流量は著明に増量する。しかし, bilokinase 活性は明らかな低値を示した。

4. Sodium taurochlate の点滴静注時には, 本実験中, 最も肝胆汁流量の増大が認められた。しかしながら bilokinase 活性は不変, もしくは僅に低値を示すのみである。

5. Saponin の点滴静注は, 肝胆汁流量を増加し, bilokinase 活性は僅に低値を示す。

以上の結果より, bilokinase の由来は肝以前に求められる可能性を示し, 電解質調節機構との関連性が示唆される。

稿を終るにあたり, 終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師岡本彰祐教授, ならびに御懇篤なる御指導を賜った大柴進講師に深甚なる感謝の意を捧げます。

文 献

- 1) Oleson, E. S. (1960) Activation of fibrinolysis in guinea pig serum by bile salts. *Thromb. Diath. Haem.* **4**, 473-481
- 2) Fleming, W. and Norman, P. S. (1960) Non-enzymatic lysis of fibrins by bile salts. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **104**, 636-638
- 3) 大柴 進・畑 滋二 (1964) 胆汁中に発見せられた specific protease inhibitor. それによる plasmin 系

の分析 (第29回近畿生理学談話会報告) *日本生理誌* **26**, 517

- 4) Oshiba, S., Hata, S. et al. (1965) Inhibition by bile on esterolytic activity produced with streptokinase in blood plasma. XXIII Int. Cong. of Physiol. Sci., abst. paper 208
- 5) 畑 滋二 (1967) 胆汁に発見された plasminogen activator について *日本生理誌* **29**, 116-126
- 6) Astrup, T. and Müllertz, S. (1951) The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochem.* **40**, 346-351
- 7) Albrechtsen, O. K. (1957) The fibrinolytic activity of human tissues. *Brit. J. Haemat.* **3**, 284
- 8) Albrechtsen, O. K. (1957) The fibrinolytic activity of animal tissues. *Acta Physiol. Scand.* **39**, 284
- 9) Todd, A. S. (1958) Fibrinolysis autographs. *Nature*, **181**, 495
- 10) Astrup, T. and Rasmussen, J. (1960) Fibrinolytic activity of cirrhotic liver. *Nature*, **185**, 619
- 11) Lack, C. H. and Ali, S. Y. (1964) Tissue activator of plasminogen. *Nature*, **201**, 1030
- 12) Sugiyama, Y. (1965) Plasminogen activator in the cytoplasmic granules from different organs of mammals: Studies on intracellular localization, releasing, and molecular size of two kinds of the activators. *Kobe J. Med. Sci.* **11**, 151-167
- 13) Sugiyama, Y. and Okamoto, S. (1964) Plasminogen activator in the cytoplasmic granules of rat kidney: Studies on extraction by isotonic and hypertonic salt solutions. *Kobe J. Med. Sci.* **10**, 257-264
- 14) Macfarlane, R. G. and Biggs, R. (1948) Fibrinolysis. Its mechanism and significance. *Blood*, **3**, 1167
- 15) Kaulla, K. N. (1964) Liver in regulation of fibrinolytic activity. *Lancet*, **1**, 1046
- 16) Wheeler, H. O. and Rans, O. L. (1960) Determination of the flow and composition of bile in the unanesthetized dog during constant infusions of sodium taurocholate. *J. Clin. Invest.* **39**, 161-170

〔原著〕

ニワトリの心臓の発生過程における興奮性膜の

性質の変化について 612. 172. 6 : 598. 617

石 間 祥 生*

Change in property of the excitable membrane of embryonic chicken heart during the course of its development

Yoshio Ishima (Second Department of Physiology, Tokyo Medical and Dental University, Faculty of Medicine)

Using the slice preparation of the embryonic chicken heart at different stages, investigations have been done about the sensitivity of ventricular cells to TTX and sodium ions. It was found that TTX could not eliminate the action potential, and that sodium could be substituted by TEA, choline, and TMA in the earlier stage of the embryo. The pattern of the action potential in sodium-free media was very similar to that in TTX saline, namely the amplitude and the rate of rise of the action potential were decreased in both cases. With increase in calcium concentration the amplitude and the rate of rise of the action potential were increased at both earlier and later stages. It is known that the ventricular muscle fiber of the chicken embryo at the earlier stage is structurally very similar to the pacemaker cells in adult chicken. This work extends the similarity to electrophysiological and pharmacological properties of the excitable membrane. The sensitivity change to TTX and to sodium ions may reflect the difference of the inside ion concentration between the cells of different stages.

[J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 472-480]

I. 緒 論

心臓原基を構成している細胞群は、発生過程にある個体のうちでも比較的早い時期に、興奮性をもった膜を形成する。特にその pacemaker 細胞は、周囲の細胞群が未だ興奮性を現わす前に、すでに自発性の活動電位を出している¹⁾。発生途上にある心筋細胞は、一定の活動性を維持しながら、心臓本来の機能を営みつつ、細胞分裂を繰返して成熟器官へと発達し、それに伴って、細胞内部の微細構造も、継続的な変化を経て、成熟形の筋細胞となる。

ニワトリの心室筋細胞からえられる活動電位は、発生の stage によって形態学的には著明な差異がみられるにも拘らず、発生の各 stage を通して、ほぼ一定の形の電位を出していることが知られている¹⁾²⁾。また、ニワトリの心筋は、テトロドトキシン(TTX)によって、膜の興奮性を失うけれども、組織培養細胞の実験では、見

掛け上、活動電位の形は、普通の心室筋細胞からえられた活動電位の形と全く同じであるのに、TTX によって興奮性を抑えることができない³⁾。このような性質は、また、pacemaker の細胞にもみられることが知られている⁴⁾⁵⁾。これ等の事実は、心筋の興奮性膜が、その発生途上において、イオンまたは薬物に対する感受性を変化させるものであることを予想させる。

この論文では、発生過程にあるニワトリの embryo の心室筋細胞を使って、一見、同じような形の活動電位が、発生の stage の違いによって、TTX およびナトリウムに対する感受性に、どのような違いを示すかを観察した。その結果、幼若な細胞は、成熟した細胞とかなり異った態度を示し、TTX によって膜の興奮を抑えることができず、また、1 価のアミンがナトリウムに代りうるのは、発生の初期に限られることがわかった。すなわち、幼若な心室筋細胞は、形態学的に pacemaker 細胞に似ているが⁶⁾、そのみでなく、電気生理学的、薬理学的諸性質においても、pacemaker 細胞の諸性質

* 東京医科歯科大学医学部第2生理学教室
〔昭和43年3月25日受付〕

に非常によく似ていることがわかったので報告する。

II. 方 法

白色レグホンの卵を 38°C 、湿度 60% の孵卵器に入れ、1 日 2 回空気を入れ替え、卵を回転させる。この方法によると、卵は、21 日ないし 22 日目に孵化させることができる。卵を孵卵器に入れてから、24 時間を経る毎に 1 日として日数を数える。実際には、その時点から 6 時間以内の卵も、同一日数の卵として実験に使用した。

取り出した心臓は、速やかに Tyrode 液中に移し、心室を切開して血液を十分洗い去った後、予め準備された恒温槽の中に作られた実験装置の上に載せられる。この装置は、任意の実験溶液が $37\sim 38^{\circ}\text{C}$ を保ちながら自由に灌流し、同時に酸素の供給ができ、液面が一定に保たれるように作られている。

実験に使用した基準液のイオン組成は、Tyrode 液に準拠し、実験目的に合うように、次のように多少作り代えた。NaCl, 152.5; KCl, 3; CaCl_2 , 2; MgCl_2 , 1 (単位は mM)。つまり、320 mM の理想非電解質と等張になるように濃度が調整されており、pH は Tris-HCl buffer によって、7.2 に調整した。この Tyrode 液中においては、どの stage の心室筋細胞も、10 時間以上興奮性を失わない。しかし、実際に実験に要した時間は、材料を切り出してから約 1 時間であった。

TTX は三共製の 1,000 μ のアンプルを用い、 H_2O で 10^{-4} g/ml の溶液として多量に作製し、pH 4.8 に調整したものを冷暗所に保存し、実験の度に、ヒヨコの大腿部にその 0.25 ml (2.5×10^{-5} g) を筋注して、呼吸筋が麻痺するまでの時間を測り、力価が一定であることを確認してから Tyrode 液で薄めて、 10^{-6} g/ml の濃度の TTX の溶液として使用した。

ナトリウムイオンの代りに用いられた各々の 1 価のイオンは、152.5 mM の NaCl の全量を、それぞれ 1 価のイオンである tetraethylammonium chloride (TEA), choline chloride (cho-

line), tetramethylammonium chloride (TMA), tetrabutylammonium chloride (TBA), Tris (hydroxymethyl) aminomethane chloride (Tris) で置換し、カリウム、カルシウム、マグネシウムの濃度は変えなかった。

カルシウムイオンの濃度に関する実験では、Tyrode 液中のナトリウムイオン 27 mM を 18 mM のカルシウムイオンで置換して、Tyrode 液中の 2 mM のカルシウムイオン濃度に対して 10 倍の、20 mM のカルシウムイオン濃度をもった溶液を作った。また、Mn を加えた実験では、Tyrode 液に MnCl_2 を加えて、その濃度を 1 mM とした溶液を作って使用した。各々の実験溶液で外液を交換した場合には、記録は 5 分から 15 分迄の安定した状態で行なった。

活動電位の記録は、80 倍のニコン実体顕微鏡下で、3 M の KCl を満した尖端の直径が 0.5μ 以下の微小電極を心室筋細胞に刺し、cathode follower の前置増幅器を通して、日本光電オシロスコープ VC-7 で観察し、写真に記録し測定した。矩形波による高周波の補償を行ない、矩形波を記録校正した。微分波形は、時定数 0.5 msec の RC 回路を使用して、電気的に同時記録した。刺激は、必要に応じて、細胞外部から、尖端のみ露出した 50μ の銀線を用いて行なった。この場合は、刺激間隔が、pacemaker のリズムに比べてかなり遅いため、活動電位の plateau が延長するのは止むをえなかった。

III. 結 果

1. Tyrode 液中の活動電位

心筋の活動電位は、一般に部位によりそれぞれ異った形を示し、外液のイオン組成によっても変化する。実験に使用した Tyrode 中での心室筋の活動電位の振幅は 50 から 80 mV のものが最も多く、rate of rise は 20 から 80 V/sec までのさまざまなものがみられた。活動電位の大きさが 50 mV 以下で、rate of rise が 20 V/sec 以下のものは、膜が損傷しているか、電極が十分に細胞内に入っていないことが多く、実験から除外した。静止電位は、40 から 60 mV の間

にあるものが多かったが、実験の前後で一致せず、また、不確実な要素が多すぎるので特に問題にできなかった。しかし、静止電位が 40mV 以下のものは、十分な活動電位がえられなかったもので、実際には含まれていない。

心室筋細胞からえられる活動電位の形は、発生 stage に関わりなく一定であるが、発生の進んだ心臓の切片を使った場合には、自発性の活動電位はみられない、そのめた電気刺激を行なって活動電位を記録したので、第2相の plateau がやや延長した (Fig. 6 の B₁ と D₁)。実験を行なっている細胞が心室筋細胞であるかどうかという指標は、記録部位と、第4相に当る膜電位が水平で、時間とともに脱分極を起こすことがなく、細胞外部からの伝導刺激や電気刺激によってのみ急な立ち上りで all-or-none に活動電位を発生し、また元の level に戻るものであることに依った (Fig. 2 A, Fig. 3 A, Fig. 4 A, Fig. 5 A, Fig. 6 B₁, Fig. 6 D₁)。特に発生の stage が進んで、心室筋に Purkinje 細胞が混在しているかも知れないような場合には、この基準を重視した。ときに、after potential のみられるものも使ったが (Fig. 1 A, Fig. 6 C₁)、第4相が水平な元の level に戻る限り問題にできなかった。3日目または4日目の細胞では、このような基準に合う細胞の数は非常に少なく往々にして、始めは水平な level を保っていた活動電位の第4相が、後には脱分極を起こし始め、脱分極が閾値に達しない前に、他からの刺激がこなければ、その細胞自身が閾値まで脱分極を続けて、ここで all-or-none の活動電位を発生する (Fig. 6 A₁)。つまり、心室筋細胞が pacemaker 細胞に変わりうる事が認められた。しかし、この時期には、未だ冠状動脈の形成はみられず、また、如何なる意味においても、Purkinje 細胞と心室筋細胞との区

Table 1. Effect of different solutions on the action potentials over the stages of development. Numbers indicate the percentage of cells which produced all-or-none action potentials at every stage in each solution. Numbers in parenthesis indicate the total number of embryonic chicken hearts used in each experiment

Days of incubation	3	4	5	6	7	8	9	10	11	20
TTX-10 ⁻⁶	100 (30)	100 (10)	100 (10)	88 (16)	75 (12)	50 (12)	44 (18)	13 (8)	0 (6)	0 (8)
TEA-Cl	100 (2)	100 (4)	70 (10)	50 (2)	83 (6)	33 (6)	33 (6)	50 (2)	0 (2)	0 (2)
Choline	100 (6)	100 (6)	30 (10)	44 (16)	0 (6)	0 (4)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (4)
TMA-Cl	100 (4)	100 (4)	42 (12)	63 (8)	0 (6)	0 (6)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)
TBA-Cl	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)
Tris-Cl	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)	0 (2)

別は形態学的に認められていない。Pacemaker 細胞の本来の位置は確定しており、この場合は、何等かの条件の変化が心室筋細胞を pacemaker 化したものと考えた。つまり、この時期の心室筋細胞は、常に pacemaker になりうる可能性を持っており、特に実験的意義にさしつかえがない限り、そのような例も採用した (Fig. 6 A₁)。

2. TTX による活動電位の変化

10⁻⁶ g/ml の TTX を含んだ Tyrode 液で外液を置換すると、まもなく活動電位の大きさおよび、rate of rise の減少がみられる (Fig. 1 B) が、5日目迄は活動電位が消失することはない。6日目からの心室筋細胞には、TTX によって、活動電位の消失する細胞と、消失しない細胞とがあり、10日目迄は活動電位を記録することができる。11日目を過ぎた細胞は、すべて TTX によって活動電位が消失した。Table 1 の数字は、括弧内に表わされた個体数の embryo からえられたそれぞれ多数の心室筋細胞について、溶液交換による活動電位の出現率を百分率で表わしたものである。5日目迄の細胞は、TTX 中でも 100 % の例に活動電位がみられる。6日目には 88 % の細胞が TTX 中でも活動電位を出している。その割合は、発生の stage が進むにつれて、だんだん少なくなり、10日目

には、13%の細胞に活動電位がみられるだけとなり、11日目以後は全く活動電位はみられなくなる。Fig. 1 は、3日目の細胞の Tyrode 中 (A), TTX 中 (B), 再び Tyrode に戻したとき (C) の活動電位およびその rate of rise の形である。TTX によって、活動電位の大きさが小さくなり、rate of rise が著明に減少する。Tyrode で20~30分洗っても、電位の大きさは回復するが、rate of rise はほとんど回復しない。Fig. 1 の下のグラフは、Tyrode 中 (白丸) および TTX 中 (黒丸) の活動電位をそれぞれ rate of rise に対する amplitude の座標に表わしたものである。Tyrode 中で 50~80 mV の活動電位を出していたものが、TTX 中では 30~50 mV に減少し、15~60 V/sec のばらつきのあった rate of rise は一様に 12 V/sec 以下に減少した。静

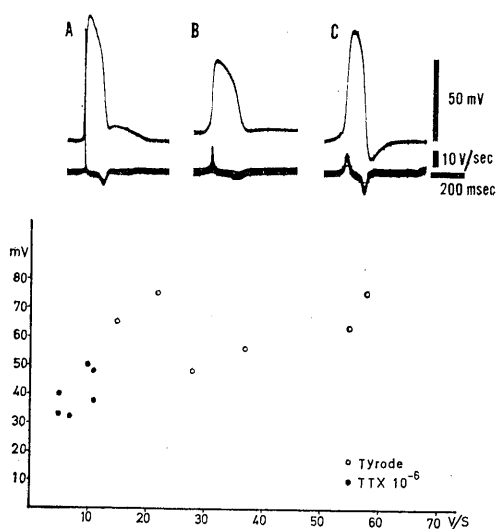


Fig. 1. Effect of tetrodotoxin on the action potential of the embryonic chicken ventricular cell membrane on the 3rd day of incubation. A, standard action potential in Tyrode solution. B, application of TTX. C, after returning to Tyrode solution from the tested solution. Upper trace, action potential. Lower trace, derivative of the membrane potential; an upward deflection corresponding to the magnitude of the rate of rise. Relationship between the maximum rate of rise and the amplitude of the action potential is shown in graph. Open circles, in Tyrode solution and filled circles, in solution with TTX.

止電位は、TTX 中でもほとんど変化なく、40~50 mV であった。このような、TTX による活動電位の変化の傾向は、4日目と5日目の例についても全く同様であり、さらに10日目迄の活動電位のみられる細胞についても同様であって、発生 of stage と活動電位の変化の傾向との間には、特定な関係はみられなかった。

3. Choline で Na を置換した場合の活動電位の変化

Tyrode 中の 152.5 mM の Na を全部 choline で置換すると、4日目迄は 100% に活動電位がみられるが、5日目には30%, 6日目には44%の細胞に活動電位がみられた。7日目以後の細胞には、活動電位のみられるものは全くなかった (Table 1). Fig. 2 は3日目の細胞の Tyrode 中 (A), choline 中 (B), および再び Tyrode に戻し

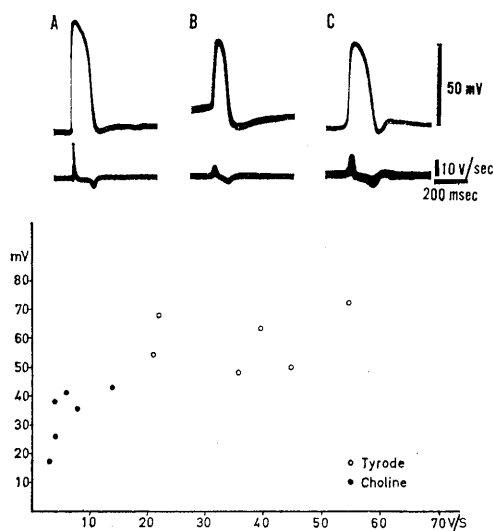


Fig. 2. Effect of choline on the action potential of the embryonic chicken ventricular cell membrane on the 3rd day of incubation. A, standard action potential in Tyrode solution. B, application of choline. C, after returning to Tyrode solution from the tested solution. Upper trace, action potential. Lower trace, derivative of the membrane potential; an upward deflection corresponding to the magnitude of the rate of rise. Relationship between the maximum rate of rise and the amplitude of the action potential is shown in graph. Open circles, in Tyrode solution and filled circles, in solution with choline.

たとき (C) の活動電位およびその rate of rise である。Fig. 2 の下のグラフは Tyrode 中 (白丸) に対する choline 中 (黒丸) の活動電位の変化を, rate of rise に対する amplitude の座標の上に, 点で表わしたものである。Choline の場合も, TTX の場合と同様に, 活動電位の大きさおよび rate of rise の減少の傾向は, 非常によく似ている。このような傾向は 4 日目から 6 日目迄の活動電位のみられる細胞についても同様であった。Choline 中でも, 静止電位の変動はあまりみられなかった。

4. TMA で Na を置換した場合の活動電位の変化

TMA の, 発生の stage に対する効果は, choline の場合と大体似ており (Table 1), 4 日目迄は 100% Na の代りをするが, 5 日目には 42%, 6 日目には 63% の細胞にしか活動電位を発生しない。7 日目以後は Na の代用を全くしなくなる。Fig. 3 は, 3 日目の例について, それぞれ Tyrode 中 (A), TMA 中 (B), および再び Tyrode に戻したとき (C) の活動電位およびその rate of rise である。Fig. 3 の下のグラフは, それぞれ Tyrode 中 (白丸) および TMA 中 (黒丸) の活動電位の大きさと rate of rise を座標上に表わしたものである。他の stage の活動電位のみられる例についても, 全く同様な傾向がみられ, stage によって, 特に何等かの傾向を示すような差違はみられなかった。TMA による活動電位の変化も, TTX による変化とその傾向は非常によく似ていた。静止電位の目立った変化は, 特にみられなかった。

5. TEA で Na を置換した場合の活動電位の変化

TEA の場合には, 他の 1 価のアミンで Na を置換した場合と違って, 4 日目迄は 100% Na の代りをするが, 5 日目には 70%, 6 日目には 50%, 7 日目には 83%, 8 日目には 33%, 9 日目には 33%, 10 日目には 50% と Na の代りをする細胞の割合はまちまちであるが, TTX の場合と同様に, 10 日目迄とにかく all-or-none の活動電位を記録することができた。11 日目から

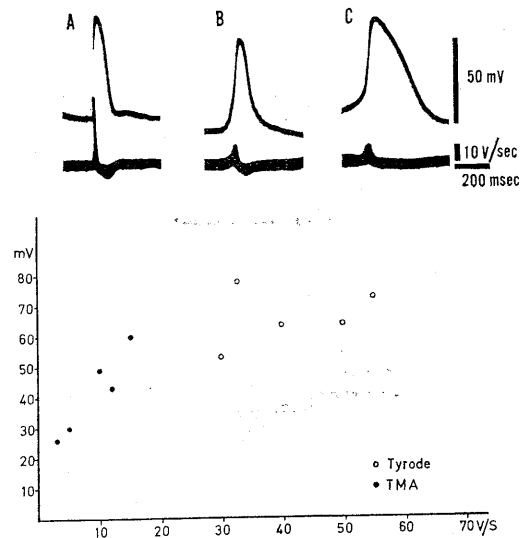


Fig. 3. Effect of TMA on the action potential of the embryonic chicken ventricular cell membrane on the 3rd day of incubation. A, standard action potential in Tyrode solution. B, application of TMA. C, after returning to Tyrode solution from the tested solution. Upper trace, action potential. Lower trace, derivative of the membrane potential; an upward deflection corresponding to the magnitude of the rate of rise. Relationship between the maximum rate of rise and the amplitude of the action potential is shown in graph. Open circles, in Tyrode solution and filled circles, in solution with TMA.

は, 活動電位の出る細胞は無く, TTX の場合と一見似ているが (Table 1), TTX が静止電位をあまり変えないのに対して, TEA は膜電位をかなり脱分極させる。脱分極は, 発生の stage が進んだ細胞ほどはなはだしく, 11 日目以後の細胞ではただ活動電位がみられないというだけではなく, 膜電位の脱分極の結果, 活動電位が発生しないように思われた。Fig. 4 は, 5 日目の細胞の Tyrode 中 (A), TEA 中 (B), および再び Tyrode に戻したとき (C) の活動電位およびその rate of rise である。Fig. 4 の下のグラフは, Tyrode 中 (白丸) と TEA 中 (黒丸) の活動電位をそれぞれ rate of rise に対する amplitude の座標に表わしたものである。このような傾向は, どの発生の stage のグラフでも大体同様であったが, 他の 1 価のアミンで Na

を置換した場合よりも活動電位の大きさの減少の傾向は大きく、発生 stage の進むほど大きさは減少する傾向にあった。このことは、静止電位の減少と併せて考えなければならない問題である。

6. その他の1価のアミンで Na を置換した場合の活動電位の変化

TBA および Tris で Na を全部置換した場合には、ニワトリの心室筋の細胞は発生すべての stage において活動電位を全く発生しない。静止電位は著しく脱分極を起し、時には10 mV 近くまで減少する。グリセリンや蔗糖で Na を置換した場合と同様に、長時間そのままの状態にしておくと膜は非可逆的に興奮性を失

う。すなわち Tyrode で洗っても元に戻らなくなる。

7. 同一個体の活動電位がそれぞれの溶液によって起す変化

Table 1 に示されたように、7日目から10日目迄の細胞は、TTX または TEA で膜の興奮性を失うものと失わないものとがあるが、choline および TMA では、活動電位は全くみられない。

しかし、これ等の実験結果は、それぞれ別の個体からえられたものの集計であって、果して同一細胞についても、そのような結果がえられるかどうかは分らない。同一細胞で長時間実験を行なうことは技術的に困難なため、便宜的に同一個体の心室筋を4つに分割して、TTX, TEA, choline, TMA, に対する効果を調べた。Fig. 5 は、このような実験の一つの例で、8日目の心室を使って、それぞれの4つの異った溶液で実験し、Tyrode 中 (A), 実験溶液中 (B), および再び Tyrode に戻した時 (C) の活動電位およびその rate of rise を記録した。その結果、TTX (B₁) および TEA (B₂) では all-or-none の活動電位が認められたにも拘らず、choline (B₃) および TMA (B₄) では活動電位が全く認められないことがわかった。したがって、Table 1 にみられるように、活動電位が消失する発生 stage が溶液によって異なるのは、偶然の結果ではないといえることができる。

8. カルシウムの濃度の違いが stage の違った細胞におよぼす効果

萩原らの実験では⁷⁾、TTX によって消失する活動電位は Na spike であり、消失しない活動電位は Ca spike であったが、ニワトリの心臓発生過程にみられる TTX に対する感受性の違いも、このようなイオンの動きの違いによって説明することができるかどうかを知るために、TTX によって活動電位が消失することのない3日目の細胞と、TTX によって活動電位が消失した10日目の細胞とを使って、カルシウムイオンに対する膜の感受性を調べた (Fig. 6)。3日目の細胞に電極を刺し、2 mM の Ca⁺⁺ を

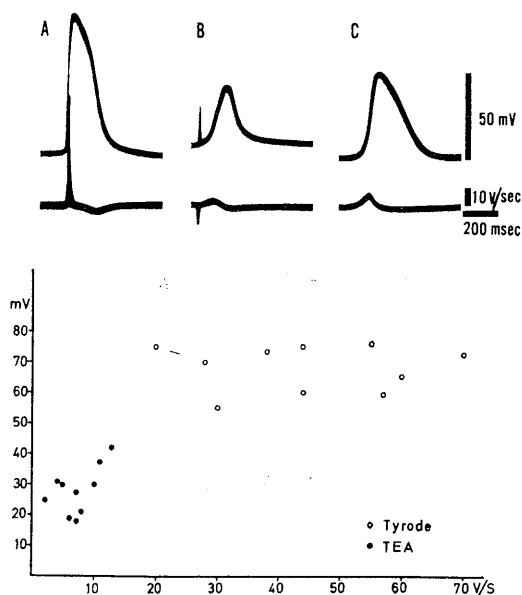


Fig. 4. Effect of TEA on the action potential of the embryonic chicken ventricular cell membrane on the 5th day of incubation. A, standard action potential in Tyrode solution. B, application of TEA. C, after returning to Tyrode solution from the tested solution. Upper trace, action potential. Lower trace, derivative of the membrane potential; an upward deflection corresponding to the magnitude of the rate of rise. Relationship between the maximum rate of rise and the amplitude of the action potential are shown in graph. Open circles, in Tyrode solution and filled circles, in solution with TEA.

含んだ Tyrode 中で、活動電位とその rate of rise を記録し (A_1), そのまま 20 mM の Ca^{++} 濃度にした Tyrode 液で外液を灌流すると、始めは (Tyrode 中で) 77 mV であった活動電位の大きさが、20 mM の Ca^{++} 溶液中で 83 mV になり、rate of rise は 38.6 V/sec であったものが、65.6 V/sec に増大した (A_2). さらに、約 200 msec であった活動電位の持続時間が、約 150 msec に短縮した. 10日目の細胞も、2 mM の Ca^{++} 中の活動電位 (B_1) に対して、20 mM の Ca^{++} 中の活動電位 (B_2) は、3日目の細胞の場合と同じような傾向を示した. 特に plateau の短縮は、10日目の細胞の活動電位の方が、一層顕著であった. これ等の結果、膜が Ca^{++} に対して感受性をもっていることがわかったが、それは、TTX によって活動電位が消失する、しないに関わりなく 3日目の活動電位が特に Ca spike であるとい証拠はなかった.

Mn^{++} は Ca^{++} と競合的に働いて、 Ca^{++} の作用を抑えるものと考えられており、萩原らの実験⁷⁾では、 Ca^{++} の作用を抑える目的で 10 mM 迄の Mn^{++} を用いている. ニワトリのembryoの心室筋細胞の場合は、4 mM 以上の Mn^{++} を用いると、発生のどの stage でも膜が脱分極を起こして、活動電位は出なくなり、Tyrode で洗っても興奮性は、なかなか回復しない. 1 mM の Mn^{++} を加えた Tyrode

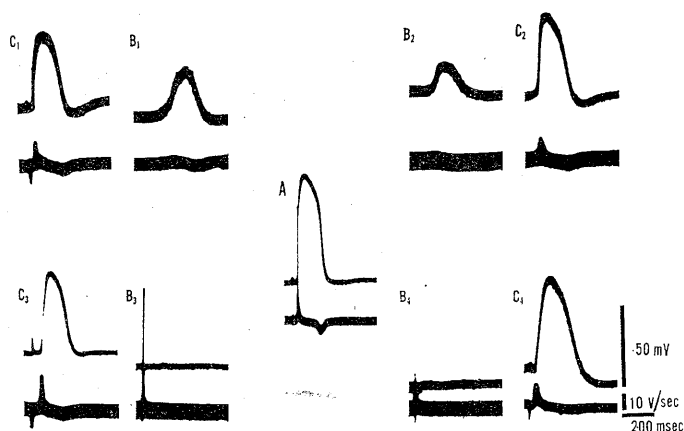


Fig. 5. Effects of tetrodotoxin and monovalent amines on the action potential of the ventricular cell membrane which is taken from an embryonic chicken on the 8th day of incubation. A ventricle is divided into four parts, and each part is tested; A, standard action potential in Tyrode solution. B₁, action potential in the solution with TTX. B₂, with TEA. B₃, with choline. B₄, with TMA. C₁, C₂, C₃, C₄ are action potentials after returning to Tyrode solution from tested solutions respectively. Lower traces of each action potential are the derivative of the membrane potential.

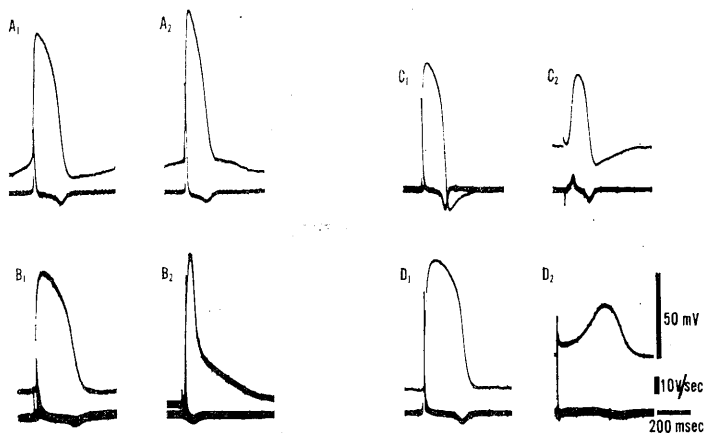


Fig. 6. Effects of Ca^{++} and Mn^{++} on the action potential of the chicken ventricular cell membrane on the 3rd and the 10th days of incubation. A; on the 3rd day of incubation. Ca^{++} concentration, 2 mM (A_1) and 20 mM (A_2). B; on the 10th day of incubation. Ca^{++} concentration, 2 mM (B_1) and 20 mM (B_2). C; on the 3rd day of incubation. C₁, in Tyrode solution without Mn^{++} . C₂, with 1 mM Mn^{++} . D; on the 10th day of incubation. D₁, in Tyrode solution without Mn^{++} . D₂, with 1 mM Mn^{++} . Upper trace, action potential. Lower trace, derivative of the membrane potential. Each pair of records (1 and 2) is obtained from the same cell.

中の3日目の細胞の活動電位 (C_2) は, Tyrode 中の活動電位 (C_1) に比べて, 大きさおよび rate of rise の減少をみた (Fig. 6). 10日目の細胞の場合も同様であって, Tyrode (D_1) に対して, 1 mM の Mn^{++} の加わった Tyrode 中での活動電位 (D_2) は, 大きさおよび rate of rise が共に減少した. 2 mM の Mn^{++} では, 3日目の細胞から約 30 mV の活動電位を記録することができたが, 10日目の細胞からは, 活動電位は発生しなくなった. 同じ濃度の Mn^{++} に対しては, 発生 stage の進んだ心室筋細胞の方が, 脱分極の度合は大きく, 活動電位の大きさおよび rate of rise の減少の度合もはなはだしかったが, いずれにしても, Mn^{++} を加えたときの活動電位の変化の傾向は, どの stage についても同じであった. したがって, ニワトリの心室筋細胞では, 3日目と10日目の活動電位の間に, TTX によって, 消失しないか, 消失するかの違いはあっても, Ca spike か Na spike かというような, 本質的な違いは見出せなかった. むしろ, Ca^{++} に対する膜の感受性の度合は, 3日目よりも10日目の細胞の方が大きかった.

IV. 考 案

TTX によって活動電位の rate of rise が減少するのは, 萩原らのカエルの心筋の場合と同様であった. Na 置換溶液中での活動電位は1価のアミンが Na の代りをしたと考えても, TTX 中における活動電位を Ca spike と考える場合と同様の Ca spike と考えても説明できる. しかし, Ca spike 説で発生初期のニワトリの心室筋細胞の活動電位を考えると, TTX や TEA の実験では, 10日目迄 Ca spike と考えられる活動電位がみられるのに, choline や TMA の実験では, 6日目の細胞迄しか活動電位がみられないのは説明が困難である. さらに8日目の同一個体の心臓を使った実験で, Ca^{++} の濃度は同じであるにも拘らず, choline や TMA では活動電位がみられないのに, TTX や TEA では活動電位がみられるという事実か

ら, Ca spike として説明することが困難となった. むしろ, それぞれの1価のイオンが, 膜に対して直接作用して, その結果が活動電位として捉えられたと解した方が無理がない⁸⁾⁹⁾. そして, 膜の性質の変化が (構造的にせよ, 機能的にせよ), 膜の内外のイオン分布のバランスを変える条件を発生過程に作り出し, イオンの種類によって, それぞれ別個に膜に対する感受性の違いを現わすものと考ええる. 直接カルシウムの濃度を変えた実験においても, TTX によって活動電位が消失するものも消失しないものも, カルシウムイオンに対する膜の感受性には, 本質的な違いはみられない. このことは, また, Mn^{++} を加えた実験においても同様であった. この場合, 2価のイオンは, 1価のイオンとは違った様式で, 膜の興奮現象に関与していると考えた方がよい. フジツボの巨大筋にみられる活動電位は, 外液の Na^+ を全部取り去っても, Ca^{++} の中で活動電位を発生するが⁷⁾, ニワトリの心筋の場合には, stage の如何を問わず, 活動電位は発生しない. 外液の Na^+ の濃度の半分をグリセリンまたは蔗糖で置換すると, 活動電位は失われる. この場合は静止電位も脱分極を起こすので, 効果の判定はできなかった. いずれにしても, 活動電位の発生に与かっているイオンが, 発生 stage によって変わっているという証拠はない. したがって, 3日目の活動電位も, 10日目の活動電位も Tyrode の中では, ナトリウムイオンによって活動電位を発生しているものと考えられる. ただ発生初期には, 他のイオンがナトリウムイオンに代りうるということに過ぎない. そして, このような膜を持った細胞には, TTX が活動電位を消失させるほどには効かないということであろう. このような膜を持った細胞の内側のイオン濃度は, TTX によって活動電位が消失する細胞の内側のイオン濃度と往々にして異なり, TTX によって活動電位が消失しない pacemaker 細胞では, 成熟した心室筋細胞に比して, 細胞内の Na^+ 濃度が約3倍高いという報告がある¹⁰⁾¹¹⁾. このような pacemaker 細胞の微細な内部構造

は発生過程の幼若な細胞の微細な内部構造によく似ていることが報告されている⁶⁾。細胞の内的環境の類似が、直ちに内部のイオン組成の類似を物語っているものと考えすることはできないが、ニワトリの心室筋の組織培養からえられた細胞の微細な内部構造¹²⁾と、幼若な心室筋細胞の微細な内部構造⁶⁾とが似ていて、共に TTX によって活動電位が消失しないということと併せ考えると、これ等の細胞内イオン環境もまた類似していると考えことは興味のある仮説と思われる。実際に、細胞内液の組成が膜の TTX に対する感受性に影響を与えることが、イカの巨大線維において認められており、ことに、細胞内に Na^+ を導入したときに、TTX への感受性の低下が認められていることは、本実験に関連して興味深いことである (田崎ら、未発表)。

V. 総括および結論

1. 発生期のニワトリの心室筋細胞は、形態学的にも、電気生理学・薬理学的にも、pacemaker 細胞によく似ていることがわかった。

2. 発生初期のニワトリの心室筋細胞は、 10^{-6} g/ml の TTX によって活動電位は消失しなかった。

TTX 中での活動電位は、大きさおよび、その立ち上り速度が減少した。

3. 発生初期のニワトリの心室筋細胞は、TEA, choline, TAM が Na の代りをする。TEA は、10日目を過ぎた細胞では Na の代りをしなくなった。Choline, TMA は、6日目を過ぎた細胞では Na の代りをしなくなった。

4. Na の代りをする1価のアミン中の活動電位は Tyrode 中の活動電位に対して、TTX によって変化した活動電位と、変化の傾向が似ていた。

5. TTX, TEA 中で活動電位がまだみられる8日目の細胞も、choline, TMA 中では活動電位は発生しなかった。

6. 3日目の細胞も、10日目の細胞も、 Ca^{++} の濃度が増せば活動電位の大きさは増大し、立

ち上り速度も増大した。また、 Ca^{++} の作用が減少すれば、活動電位の大きさも立ち上り速度も、ともに減少した。

稿を終わるに臨み、御教示御校閲を賜った渡辺昭教授、佐野豊美教授、大塚正徳教授に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Van Mierop, Lodewyk H. S. (1967) Location of pacemaker in chick embryo heart at the time of initiation of heartbeat. *Am. J. Physiol.*, **212** (2), 402-415
- 2) Fingl, E., Woodbury, L. A. and Hecht, H. H. (1952) Effects of innervation and drugs upon direct membrane potentials of embryonic chick myocardium. *J. Pharmacol. and exper. Therap.*, **104**, 103-114
- 3) Sperelakis, N. and Lehmkuhl, D. (1965) Insensitivity of cultured chick heart cells to autonomic agents and tetrodotoxin. *Am. J. Physiol.*, **209** (4), 693-698
- 4) Yamagishi, S. and Sano, T. (1966) Effect of tetrodotoxin on the pacemaker action potential of the sinus node. *Proc. Japan. Acad.*, **42** (10), 1194-1196
- 5) Dudel, J., Peper, K., Rüdel, R. and Trautwein, W. (1967) The effect of tetrodotoxin on the membrane current in cardiac muscle (Purkinje fibers). *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, **295**, 213-226
- 6) Mizuhira, V., Hirakow, R. and Ozawa, H. (1967) *Electrophysiology and Ultrastructure of the Heart*. p. 15-26, Bunkodo, Tokyo.
- 7) Hagiwara, S. and Nakajima, S. (1966) Differences in Na and Ca spikes as examined by application of tetrodotoxin, procaine, and manganese ions. *J. gen. Physiol.*, **49**, 793-806
- 8) Fatt, P. and Katz, B. (1953) The electrical properties of crustacean muscle fibres. *J. Physiol.*, **120**, 171-204
- 9) Lorente de Nó, R., Vidal, F. and Larramendi, L. M. H. (1957) Restoration of sodium-deficient frog nerve fibres by onium ions. *Nature*, **179**, 737-738
- 10) Davies, F., Davies, R. E., Francis, E. T. B. and Whittam, R. (1952) The sodium and potassium content of cardiac and other tissues of the ox. *J. Physiol.*, **118**, 276-281
- 11) Mazel, P. and Holland, W. C. (1958) Acetylcholine and electrolyte metabolism in the various chambers of the frog and turtle heart. *Circulation Res.*, **6**, 684-688
- 12) Wollenberger, A. (1964) Rhythmic and arrhythmic contractile activity of single myocardial cells cultured in Vitro. *Am. Heart Assoc. Monograph*, **9**, 184-201

On the hydrodynamic amplification in vascular system

Ippei Hatakeyama *

*Department of Physiology, Yokohama City University School of Medicine,
Yokohama*

The flow in an elastic tube as blood vessel is determined by an upper stream-pressure (P_U), a downstream-pressure (P_D) and an external pressure (P_E). When the same external pressure is distributed throughout the entire tube, we can consider the tube as a circuit element with three terminals. The author has investigated the relationship between three pressures (P_U , P_D , P_E) and flow velocity in the tube, and found that the elastic tube has a character as an amplifying element. Because its action shows a close analogy with electronic tube or transistor, we can indicate the following correspondence between elastic tube and electronic triode: upper stream-end $\longleftrightarrow$ cathode, downstream-end $\longleftrightarrow$ anode, outside of the tube $\longleftrightarrow$ control grid.

When a pure flow resistance (R_L) is connected with the elastic tube at the downstream end and the constant positive pressure (P_U) is supplied at another end of the tube (Fig. 1 a), we can obtain the relationship between external pressure (P_E) and downstream pressure (P_D) as shown in Fig. 1 b. The curve in Fig. 1 b has a part of gradient $\left| \frac{dP_D}{dP_E} \right| > 1$ when R_L is sufficiently large, that is to say, input, the variation of P_E (p_E), is amplified and transferred into output, the variation of P_D (p_D). In such an elastic tube, we can determine the following quantities:

self conductance,

$$q = \left(\frac{\partial i}{\partial P_D} \right)_{P_U, P_E = \text{constant}}$$

mutual conductance,

$$g = \left(\frac{\partial i}{\partial P_E} \right)_{P_U, P_D = \text{constant}}$$

(i = flow velocity in the tube)

These are quantities in "multiple terminal-space" that is a mathematical abstract space recently developed by the author¹⁾. Mutual conductance g_m and plate resistance r_p in electronic tube correspond respectively with $-g$ and $-\frac{1}{q}$.

On the assumption that q and g are constant in linear part of the curve shown in Fig. 1 b, the relationship between p_D and p_E is calculated as

$$p_D = \frac{R_L g}{q R_L - 1} p_E$$

We can consider the elastic tube to be a one-dimensional system composed of infinite number of ring bands of infinitesimal width, and defined above-mentioned self conductance q and mutual conductance g in the band. Then we obtain a differential equation:

$$q \frac{dp}{dx} + g(p_E - p) - i = 0 \quad (1)$$

where $p = p(x)$ and $p_E = p_E(x)$ are respectively internal pressure and external pressure in point x . p , p_E and i are measured as the variations, and q and g are considered to be not influenced by flow velocity. From this equation, the distribution of internal pressure in the system shown in Fig. 1 a, where external pressure equally distributed, is deduced as follows:

* 畠山一平; 横浜市立大学医学部生理学教室

[Received for publication March 21, 1968]

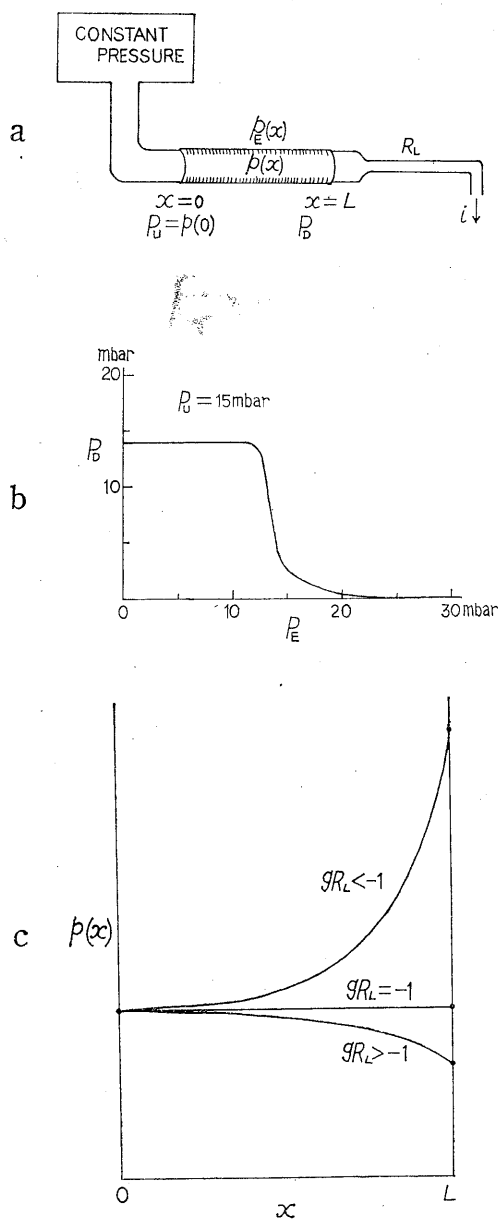


Fig. 1. When the outer pressure of elastic tube with a flow resistance (a) is changed, the relationship between downstream pressure and outer pressure shows amplifying effect (b). When the upper stream pressure is changed by $p(0)$, the pressure change in downstream is possible to be rather larger than in upper stream as long as the load resistance is sufficiently large (c).

$$p(x) = \frac{(gR_L + 1)e^{-\frac{g}{q}(L-x)} - 1}{g} i \quad (2)$$

where L is the length of the tube. Formula (2) indicates the following fact (Fig. 1 c): When $-gR_L$ is larger than 1, $p(x)$ is rather higher in downstream than in upper stream (effective resistance of the tube is negative!), and when $-gR_L$ is equal to 1, any change in pressure gradient is not produced (effective resistance is 0). Such an idea on the negative resistance in vascular system was already discussed by Hatakeyama and Sagawa²⁾ although mathematical analysis was not sufficient. When $-gR_L$ is smaller than 1, $p(x)$ in downstream is lower than in upper stream but the effective resistance of the tube is smaller than its internal resistance ($= -\frac{L}{q}$) as the rigid tube.

It is possible that the hydrodynamic amplification occurs in peripheral circulation and particularly it plays an important role in control of the microcirculation. The author has obtained considerable experimental data as its evidence which will be reported in succeeding papers.

References

- 1) Hatakeyama, I. (1968) Multiple terminal-space theory and hemodynamics. Symposium on hemodynamical theory, held 25th Feb., 1968 in Tokyo. Proceedings are in preparation.
- 2) Hatakeyama, I. and Sagawa, K. (1963) Keisoku to Seigyō (J. Soc. Instr. and Control Engineers), 2, 123-130

Plasma levels of free fatty acids in winter in relation to metabolic rate.

Shinji Itoh, Akihiro Kuroshima, Katsuhiko Doi and
Keiichi Yoshimura *

Department of Physiology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo

In our previous study on seasonal variations of plasma lipid profiles it was found that plasma levels of free fatty acids (FFA) were considerably high in the winter and low in the summer. Mean value in the former season was 21 per cent over the level in the latter¹⁾. It was also demonstrated that the plasma FFA level in the winter was the highest in subjects born on the main island of Japan and living in Sapporo, followed by those born on Hokkaido and living in Sapporo, and the lowest value was observed in farmers living in one of the coldest areas in Hokkaido²⁾. The results may suggest that FFA mobilization from fat stores is stimulated markedly in non-acclimatized men, owing to the accelerated demand of metabolic fuel for thermoregulation in the cold. It was of interest that a highly significant correlation was found between BMR and plasma FFA level both in winter and in summer³⁾. An assumption might be proposed that the elevation of BMR in the winter is possibly related to the increase in plasma FFA level.

Further experiments were carried out in order to ascertain the above hypothesis, comparing the plasma FFA levels in 9 groups of subjects living in different areas in Hokkaido, including 2 groups of the Ainu. Blood specimens were obtained from the antecubital vein in the morning before breakfast. At the same time

BMR was measured by employing Douglas bag and Scholander micro-gas analyzer. FFA was determined by the colorimetric method of Itaya and Ui⁴⁾.

In Sapporo, rather warm area in Hokkaido, subjects who were born on the main island showed 24 per cent higher level of the plasma FFA over that in those born on Hokkaido ($P < 0.001$). Japanese subjects living in rural and colder districts (Asahikawa, Huren, Monbetsu and Niikappu) showed uniformly low levels of the plasma FFA. Mean value of 62 subjects, including policemen, farmers, fishermen and fish factory workers, was $379 \mu\text{Eq/l}$ with standard error of ± 27.4 (Table 1). The plasma levels in 2 groups of the Ainu in Niikappu and Asahikawa were the lowest, $294 \pm 41.0 \mu\text{Eq/l}$ and 314 ± 26.6 , respectively. The mean value of these 27 Ainu subjects was $306 \pm 22.2 \mu\text{Eq/l}$, which was 19 per cent below the level obtained in the Japanese in rural districts ($P < 0.05$).

The above results were in accord with our previous observations that the plasma levels of FFA in the winter showed stepwise differences according to experiences in cold exposure. The lowest was observed in subjects who were regarded as well adapted to cold, while the highest in subjects who were not so. It is of particular interest that the plasma FFA level of the Ainu was lower than that of the Japanese living in the same climate, suggesting an inherent characteristics of the Ainu in fat me-

* 伊藤真次・黒島晨汎・土居勝彦・吉村啓一：
北海道大学医学部第1生理学教室

[Received for publication March 26, 1968]

Table 1. Plasma free fatty acid levels in winter

Group	Living place	No. of subjects	Age (average)	FFA, $\mu\text{Eq/l}$ Mean $\pm$ S. E.
I Students born on main island	Sapporo	15	21-26 (22)	598 $\pm$ 23.0
II Students and professionals	Sapporo	24	20-34 (23)	481 $\pm$ 9.8 P < 0.001 vs I
III a Policemen	Asahikawa	15	21-40 (27)	376 $\pm$ 32.5
b Farmers	Huren	15	28-39 (35)	393 $\pm$ 29.5
c Fishermen	Monbetsu	13	35-50 (42)	394 $\pm$ 47.9
d Fish factory workers	Monbetsu	8	20-45 (31)	362 $\pm$ 44.7
e Farmers	Niikappu	11	20-50 (33)	357 $\pm$ 25.5
Total		62		379 $\pm$ 27.4 P < 0.001 vs II
IV a Ainu	Asahikawa	17	17-45 (28)	314 $\pm$ 26.6
b Ainu	Niikappu	10	22-58 (41)	294 $\pm$ 41.0
Total		27		302 $\pm$ 62.2 P < 0.05 vs III

tabolism. The difference may not be solely attributable to the nature of diet, since the Ainu in Niikappu are taking almost the same diet as that of the Japanese in this district.

The mobilization of depot fat as FFA will make it possible to be available fatty acids for energy production, and thus to enhance the metabolic rate. From this point of view, BMR was measured in 5 groups of subjects. Results were 41.2 ± 0.50 Cal/m²•hr in 14 students in Sapporo, 43.9 ± 1.57 in 15 farmers in Huren, 42.4 ± 1.0 in 8 fish factory workers, 41.2 ± 1.0 in 13 fishermen in Monbetsu, and 40.2 ± 0.63 in 13 Ainu in Asahikawa. The mean value of 50 Japanese subjects was 42.2 Cal/m²•hr with standard error of ± 0.59 , that was significantly higher than the level of the Ainu ($P < 0.05$).

However, since the plasma levels of FFA are easily affected by various factors, it is difficult to draw a definite conclusion from the present results. In our study on Huren farmers the elevation of BMR in the winter was found to be not associated with an increase in plasma FFA³⁾; that is, in these subjects plasma FFA levels in the winter were not significantly different from those in the summer, although a marked seasonal change was observed in

BMR. We also failed to detect correlation between plasma FFA levels and RQ values under the basal condition in the morning (unpublished data), indicating that plasma FFA is not necessarily principal metabolic fuel under the conditions employed. It is known that the plasma FFA levels are possibly related to various factors, particularly to hormonal regulatory processes. Further studies would be directed at investigating the possibility that alterations in endocrine function, occurring in the course of cold adaptation, may affect the release of FFA from fat stores.

This work was supported by a grant from the Japan Society for the Promotion of Science (M-8). The authors are greatly indebted to Dr. K. Kumagai, Director of the Monbetsu General Hospital, Dr. K. Matsumoto, Director of the Huren Hospital, Mr. K. Otuka, Asahikawa Police Station, and Dr. N. Yazawa in Niikappu for their cordial help.

References

- 1) Itoh, S., Konno, N., Yoshimura, K., Kuroshima, A. and Ikemoto, H. (1967) J. Physiol. Soc. Japan **29**, 266
- 2) Itoh, S., Konno, N., Yoshimura, K. and Kuroshima, A. (1967) J. Physiol. Soc. Japan **29**, 239
- 3) Itoh, S., Doi, K., Kuroshima, A. and Ota, R. (1967) J. Physiol. Soc. Japan **29**, 700
- 4) Itaya, K. and Ui, M. (1965) J. Lipid Res. **6**, 16

Contracture of a single crayfish muscle fibre

Moto Matsumura *

Department of Physiology, School of Medicine, Juntendo University, Tokyo

Membrane potential changes, tension development and shortening velocity under no load in potassium rich solution were studied with a single muscle fibre prepared from depressor basipodite of the crayfish, *Cambarus clarkii*. The method of rapid exchange of external solution was similar to that of Hodgkin and Horowicz¹⁾. Freygang's type flexible intracellular microelectrode²⁾ with tip resistance of 10~20 M Ω was inserted into the muscle fibre to record the membrane potential, and indifferent microelectrode of 1~5 M Ω was soaked in the external solution. Tension and shortening were measured with RCA 5734 transducer and photoelectric tube respectively. Normal bathing solution had the following composition (mM); NaCl 200, KCl 5, CaCl₂ 14, MgCl₂ 2.8 and NaHCO₃ 2.1. The concentrations of K⁺ and Cl⁻ were always changed so as to satisfy the equation $[K^+]\cdot[Cl^-]=1200$, by replacing Cl⁻ with propionate.

The resting membrane potential was -65~-80 mV. The membrane was depolarized rapidly when the external K⁺ concentration was raised. When K⁺ concentration was reduced, however, the membrane was repolarized rather slowly with a half time of several seconds. The time course of repolarization seems to be divided into the early rapid and the late slow phases (Fig. 1, A~C). The slow phase may reflect the outward diffusion of K⁺ which has been accumulated in some place, probably in tubular lumen, during exposure of the muscle

fibre to potassium rich solution¹⁾.

Contracture tension was observed when K⁺ concentration was raised from 5 mM to 20 mM, and it was increased with the increase in K⁺ concentration. The membrane potential at threshold concentration of 20 mM K⁺ was around -50 mV. In potassium rich solution with less than 100 mM K⁺, contracture tension was maintained more than 20 sec (Fig. 1, A, B), but in 205 mM K⁺, containing normal concentrations of Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺, contracture tension reached the maximum and then soon started to decrease (Fig. 1, C). At this high K⁺ concentration, contracture tension of a single fibre amounted to more than 2 g (20°C), but the fibre failed to develop tension reversibly. Therefore, 205 mM K⁺ was applied only in the last test in order to obtain the maximum tension of the fibre. In Fig. 1, D, the relation is shown between peak tension of contracture and K⁺ concentration or membrane potential. Tension-membrane potential relation in depressor basipodite muscle is similar to those obtained for frog fast³⁾ or slow fibre⁴⁾ and for leg muscle of a crayfish⁵⁾. However, in this muscle, it was remarkable that at the K⁺ concentration between 100 and 205 mM contracture tension was still increased and the real maximum tension could not be determined.

At 2~4°C, contracture was not initiated until K⁺ concentration was increased to 24 mM. The shortening velocity under no load during contracture was measured by the application of quick release at the peak of contracture tension. The shortening of contractile component, which

* 松村幹郎：順天堂大学医学部生理学第2講座
(Received for publication March 30, 1968)

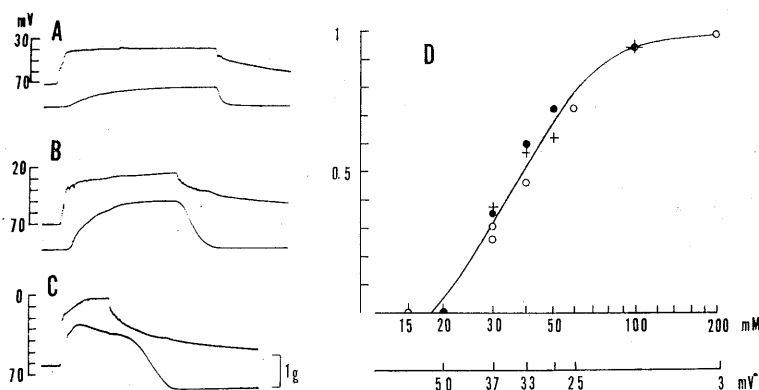


Fig. 1. A, B and C: Membrane potential (upper traces) and tension (lower traces) in potassium rich solution. 30 mM K in A, 60 mM K in B and 205 mM K in C. D: Tension or shortening velocity expressed as a fraction of maximum value in various K⁺ concentrations. Continued line; the mean tension in 6 experiments at 18~23°C. Hollow circles; tension at 23°C, and refer to membrane potential scale. Filled circles; tension at 2~3°C. Crosses; shortening velocity under no load at 2~3°C. Records in A and B lasted for 22 msec.

followed the rapid shortening due to series elastic component, was not linear but the velocity of shortening was decreased as the shortening advanced, as was reported in frog slow muscle⁶⁾. The maximum velocity of contractile component immediately after the release in 100 mM K⁺ was 0.5~0.65 of muscle length/sec at 2~4°C. The relative velocities in various K⁺ concentrations are also illustrated in Fig. 1, D. It is concluded that the shortening velocity under no load in contracture is also dependent on the membrane depolarization.

Graded increase in tension with increased membrane depolarization was explained as the recruitment of the activated myofibrils⁷⁾. Under the condition of free shortening, the inactive myofibrils will act as the resistance against the active shortening of the activated myofibrils. If this hypothesis is valid, the large diameter of this muscle may explain the fact that the relation between K⁺ concentration and peak tension of contracture in this muscle is more graded than in frog muscle. Another possibility is that the whole myofibrils are activated in a graded manner according to the degree of the

membrane depolarization and that both tension and shortening velocity under no load are dependent on the degree of activation. The latter seems to be more reasonable because, according to Endo⁸⁾, not only tension development but also free shortening velocity of skinned fast muscle fibre of the frog showed a graded increase with increasing internal free Ca⁺⁺ concentration.

I should like to thank Professor Hidenobu Mashima for helpful discussion and reading the manuscript.

References

- 1) Hodgkin, A. L. and Horowicz, P. (1960) *J. Physiol.* **153**, 370-385
- 2) Freygang, W. H., Goldstein, D. A. and Hellam, D. C. (1964) *J. gen. Physiol.* **47**, 929-952
- 3) Hodgkin, A. L. and Horowicz, P. (1960) *J. Physiol.* **153**, 386-403
- 4) Lännergren, J. (1967) *Acta physiol. scand.* **69**, 362-372
- 5) Zachar, J. and Zacharová, D. (1966) *J. Physiol.* **186**, 596-618
- 6) Aidley, D. J. (1965) *Proc. Roy. Soc. B*, **163**, 215-223
- 7) Gonzales-Serratus, H. (1965) *J. Physiol.* **179**, 12 P-14 P
- 8) Endo, M. (1967) *Proc. 17 th Japan Gen. Medical Conf. Section 1*, 193-197

On the resistance to quick stretch during contraction in frog's skeletal muscle

Hidenobu Mashima *

Department of Physiology, School of Medicine, Juntendo University, Tokyo

Applying quick stretches to the frog skeletal muscle at various moments after a stimulus, Hill^{3,4)} (1949, 1951) showed that the intrinsic response of the contractile material reached its full extent immediately after the end of the latent period. With the velocity of shortening, Mashima⁵⁾ (1968) also showed an immediate onset of full contractility under no load condition. However, the tension developed by a constant stretch or the longitudinal stiffness of the muscle was increased as the contractile response proceeded even in Hill's observation³⁾. It is apparent that a part of this stiffness increase is resulted from a change in length of the series elastic component stretched by the contractile one. In the present study the muscle was released after a stimulus by a sufficient length, usually about 5 % of the muscle length so as to diminish the contractile tension, and then it was stretched by the same amount, in order to eliminate the change in length of the series elastic component at the instant just before the stretch. By means of this release and stretch method, it was examined whether or not the resistance to stretch of the contractile component reached its full extent immediately after a stimulus.

The material used was a small bundle prepared from the semitendinosus muscle of the frog, *Rana nigromaculata*. The muscle was laid horizontally in the Ringer bath and the temperature of the Ringer solution was main-

tained at 10°C by a thermoelectric regulator. One tendinosus end of the muscle was penetrated by the stainless steel needle attached to the anodal pin of RCA-5734 tube and the other end was by the stainless steel needle at the tip of an isotonic lever. A pair of platinum foil electrodes were mounted at the opposite walls of the bath and the muscle was stimulated by a transverse electrical current field with the duration of 1 msec. After a certain time from the stimulus a quick release was made by pulling a small hook from the lever with electromagnet. As soon as the muscle shortened by about 0.5 mm, less than 5 % of the whole length, another electromagnet worked to push the lever to the initial position. Either the release or the stretch took about 5 msec each, then the speed of stretching was 10 cm/sec.

The tensions developed by quick stretches at various moments after a single stimulus were plotted in Fig. 1, A, curve 1. The time course is quite similar to the stiffness change for the oscillating force described by Buchthal and Kaiser²⁾ (1951). The resistance to stretch of the muscle began to increase within the latency of contraction and it was increased more rapidly at later than 20 msec. When two stimuli were applied at the interval of 15 msec, the slope of stiffness change was clearly augmented (Fig. 1, A, curve 2). However, when three or more stimuli were applied, no further increase was observed on the slope (Fig. 1, A, curve 3). In Fig. 1, B, the rate of stiffness change is shown as a function of time after the first stimulus.

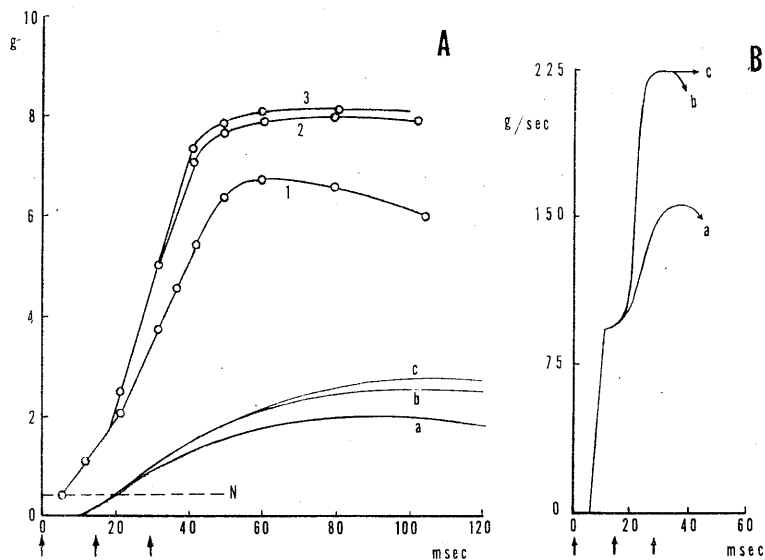


Fig. 1. A. The tension developed by quick release and stretch during contraction. 1, 2 and 3: after single, two and three stimuli respectively; a, b and c: isometric contraction curves by single, two and three stimuli respectively; N: Tension level developed in the resting muscle. B. The rate of stiffness increase at the early part of contraction. a, b and c: after single, two and three stimuli respectively. Arrows under abscissae indicate the stimuli. Stimulus interval, 15 msec; 10°C.

Apparently the curve shows a hump and separated into two steps; the first step of the rate of stiffness increase is seen between 10~15 msec after a stimulus and the second step is between 20~25 msec. Only the second step is potentiated by the second stimulus to the full extent. The third or further stimulus has no potentiating effect on the rate of stiffness increase. Brady¹⁾ (1966) showed a slow onset of contractility in cardiac muscle but in skeletal muscle it is increased very rapidly within the latency as pointed out by Hill³⁾ (1949).

It is likely that the stiffness change during contraction represents the mechanical interaction between thick and thin myofilaments, which depends on the number of cross-links in the overlapped area of both filaments. Then, the rate of stiffness increase would reflect the intensity of activation or the rate of formation of cross-links between filaments. In this point of view, the hump observed in Fig. 1, B would

mean the initial rush recruitment or synchronized formation of cross-links and the second step would mean the rate of increase in the number of cross-links with the sliding of filaments.

The resistance to quick stretch during contraction was measured by means of the quick release and stretch method. It was concluded that the longitudinal stiffness of the muscle was increased rapidly in two steps immediately after a stimulus at the body length and the rate of stiffness increase reach its full extent not by one but by two stimuli.

References

- 1) Brady, A. J. (1966) *J. Physiol.* **184**, 560-580
- 2) Buchthal, F. and Kaiser, E. (1951) *Dan. Biol. Med.* **21**, 1-318
- 3) Hill, A. V. (1949) *Proc. Roy. Soc. B* **136**, 399-420
- 4) Hill, A. V. (1951) *Proc. Roy. Soc. B* **138**, 329-338
- 5) Mashima, H. (1968) *J. Physiol. Soc. Japan* **30**, 413-414

Effects of age and body weight on *de novo* synthesis of protein in the anterior pituitary gland of male rats

Tadao Kakegawa, Shigeru Matsuzaki and Kiyoshi Yamamoto

Department of Physiology, Institute of Endocrinology, Gunma University, Maebashi

The rate of protein synthesis can be reasonably utilized as a physiological index of the function of the anterior pituitary gland, since the gland shows extraordinarily higher synthetic rate of protein than other tissues such as the liver and diaphragm, and also shows rapid changes in its mass and in the synthetic and secretion rates of protein hormones under various physiological or experimental conditions. Alterations of pituitary protein synthesis due to changes in thyroid states have been reported before from our laboratory¹⁾²⁾³⁾⁴⁾. This note describes that the rate of protein synthesis is under the influences of both age and body weight. These findings should be utilized in order to obtain good results in investigations, in which alterations of pituitary protein synthesis is studied under various experimental conditions.

To estimate the rate of *de novo* synthesis of total protein in rat anterior pituitary, male rats of wistar strain of various ages or body weights were sacrificed, and incorporation of glycine-1-¹⁴C or alanine-U-¹⁴C into excised pituitaries was measured *in vitro*. The details of the experimental procedures have been described elsewhere²⁾.

Table 1 shows that glycine incorporation decreased with increasing age of rats. The youngest rats (Group A), aged 25 days, showed

Table 1. Effect of age on glycine incorporation into rat anterior pituitaries

Exp. groups	Age (days)	Body weight (g)	Glycine incorporation (Cpm/mg protein)
A (6) ¹⁾	25	45~60	9 967 ± 516.8 ²⁾
B (6)	38	80~90	6 887 ± 370.5
C (6)	66	120~150	6 147 ± 497.6
D (6)	211	250~300	5 075 ± 421.9
E (6)	238	400	5 177 ± 627.6

1) Number of rats used.

2) Mean ± SE.

Table 2. Effect of body weight on alanine incorporation into the anterior pituitaries of rats of the same age¹⁾

Exp. groups	Body weight (g)	Alanine incorporation (Cpm/mg protein)
A (8) ²⁾	119 ± 1.9 ³⁾	13 983 ± 476 ³⁾
B (8)	137 ± 1.9	13 081 ± 1 174
C (8)	157 ± 0.4	10 864 ± 618
D (8)	180 ± 2.1	7 062 ± 925

1) Eight weeks old.

2) Number of rats used.

3) Mean ± SE.

especially high incorporation rate. The difference between this group and other 4 groups was highly significant ($P < 0.001$). Beyond the age of 38 days, the rate did not differ much among 4 groups (B, C, D, E). But the differences between B and D ($P < 0.01$) and B and E ($P < 0.05$) were statistically significant.

Table 2 shows alanine incorporation into the anterior pituitaries of rats of the same age (8 weeks old) but with different body weight.

Even with rats of the same age, the incorporation rate differs markedly with varied body weight. The greater the body weight, the less the incorporation. The differences between group A and C ($P < 0.01$), D ($P < 0.001$), group B and D ($P < 0.01$), and group C and D ($P < 0.01$) were statistically significant.

In the last experiment shown in Table 3, adult rats of different body weight but of unknown age were used. Rats of greater body weight again showed less alanine incorporation. However, the difference was not statistically significant between rats of 98 g and 155 g. Melchior and Halikis⁵⁾ reported incorporation of methionine-³⁵S into proteins of the whole pituitary, including posterior lobe, of male Sprague-Dawley rats with body weight ranging from 10 g to 375 g. They observed that the incorporation decreased with the increase of body weight. Although exact ages of their rats were not shown, they described that the incorporation remains relatively constant throughout life after the first 2 weeks, with tendency to decrease in the older rats.

These results indicate that the age and body weight of rats are the important factors which determine the rate of incorporation of amino acids, or so-called *de novo* synthesis of proteins, in the anterior pituitary. Therefore, it is desirable to use groups of rats of similar age with

similar body weight in studying protein synthesis in the anterior pituitary. However, to collect a considerable number of rats of similar age is rather difficult and we must usually be satisfied with rats of similar body weight. Rats with body weight less than 100 g give anterior pituitaries with a high incorporation rate, but the mass of the tissue is too small to treat with ease. On the other hand, the anterior pituitaries from rats with body weight of over 200 g show low incorporation rate. Therefore, we have used male adult rats between 100 and 200 g, selecting rats of body weights with the slightest difference for each experiment, and the results obtained have been satisfactory¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁶⁾⁷⁾.

As was stated in introductory remarks, the rate of amino acid incorporation might be an indication of the physiological activity of the anterior pituitary. Then, the younger and lighter the rats, the higher the incorporation. However, the question how younger or lighter rats show a higher incorporation rate remains to be clarified. Further, it is interesting to investigate which protein fractions in the anterior pituitary mainly undergo changes due to aging or body weight growth. These studies are now under way.

References

- 1) Tonoue, T. and Yamamoto, K. (1967) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **26**, 315
- 2) Tonoue, T. and Yamamoto, K. (1967) *Endocrinology* **81**, 1029
- 3) Tonoue, T. and Yamamoto, K. (1968) *Jap. J. Physiol.* (in press)
- 4) Tonoue, T. and Yamamoto, K. (1968) *Gunma Symp. in Endocrinology* (in press)
- 5) Melchior, J. B. and Halikis, M. N. (1952) *J. Biol. Chem.* **199**, 773
- 6) Hoshino, S., Tonoue, T. and Yamamoto, K. (in preparation)
- 7) Kakegawa, T., Matsuzaki, S. and Hoshino, S. (in preparation)

Table 3. Effect of body weight and alanine incorporation into anterior pituitaries of rats of unknown age

No. of animals	Body weight (g)	Alanine incorporation (Cpm/mg protein)
7	98 ± 2.5 ¹⁾	28 554 ± 2 493 ¹⁾
6	155 ± 2.0	24 718 ± 3 018
6	212 ± 7.9	16 722 ± 1 255

1) Mean ± SE.

ウサギ摘出心房に対するビタミン B₆ 誘導体の効果

Effect of vitamin B₆ derivative on the isolated rabbit atria

赤 池 紀 生・甲 和 良 夫

(Norio Akaike and Yoshio Kowa)*

田辺製薬中央検査所臨床薬理部

アミノ酸のアミノ基転移, ラセミ化, 脱炭酸などのアミノ酸代謝に関するビタミンとして B₆ は古くから知られているが, ビタミン B₆ の薬理学的検討は比較的遅れ, 最近になっていくつか試みられている¹⁾²⁾³⁾⁴⁾. 心筋組織については Christenson⁵⁾ や Christenson と Collins⁶⁾ が心筋細胞での Na, K の輸送とグリシン等のアミノ酸の輸送にビタミン B₆ がかわりあっていると報告している.

本実験ではビタミン B₆ およびその誘導体がいかなる薬理作用をウサギ摘出心房の膜電位におよぼすか, そしてビタミン B₆ の作用がビタミン B₁, B₁₂ の作用とどう違うかを電気生理学的に検討した.

実験動物としては体重 2.5 kg 前後の雄のカイウサギ18匹を使用した. 両総頸動脈より放血致死せしめた後, 約 30°C の Tyrode 液中で自動能を有する右心房筋を取り出し, 実験装置に移した. 標本固定用の浴槽は常時 95% O₂ + 5% CO₂ で飽和されている 40 ml の Tyrode 液で満たされ, その中のパラフィン処理したコルク片上に標本を固定した. 35±0.2°C に維持されている Tyrode 液の組成 (g/l) は, NaCl 8.0, KCl 0.2, CaCl₂ · 2 H₂O 0.265, MgCl₂ · 6 H₂O 0.1, NaH₂PO₄ · 2 H₂O 0.515, NaHCO₃ 1.0, ブドウ糖 1.0 からなる. 電氣的記録は標本の収縮張力の変動を, 歪用トランスデューサー, 搬送増幅器を介してペン書き記録器または 2 現象オシロスコープに記録した. 心筋細胞膜電位の測定には

10~50 MΩ の抵抗値をもつ 3 M KCl 充填の微小電極を用いた⁷⁾. えられた膜電位はカソードフォロワー, 直結増幅器を経てオシロスコープに映像, 撮影した. 微小電極の細胞内への刺入は心内膜面より行なった. 使用した薬物はビタミン B₆ として pyridoxal hydrochloride (PAL), その誘導体として pyridoxal phosphate (PALP), pyridoxal azine (PAL-azine), pyridoxal-D-L-homocysteine (PAL-HCySH), pyridoxine nicotinate (PIN-Ni), ビタミン B₁₂ として hydroxocobalamine (OH-B₁₂), ビタミン B₁ として o-butyrylthiamine disulfide (BuTDS) である. 薬物の投与は標本摘出60分後からはじめ, 投与方法としては薬物を直接浴槽内に添加し, 最終濃度が目的の値になるようにした. 同一標本に二つ以上の薬物を試みるときは正常 Tyrode 液で約 20 分間標本を洗滌した後行なった.

PAL とその誘導体を標本に与えたときの 30 分後における拍動数, 収縮張力, 活動電位, 90%再分極時の活動電位幅を示したのが表 1 である. 表から PAL と PAL-azine に軽度の拍動数増加がみられ, 他のビタミン B₆ 誘導体では減少が起こったことがわかる. PAL は収縮張力にも明らかに増強を与えたが, 誘導体はすべて抑制を与えた. これ等 PAL およびその誘導体による拍動数, 収縮張力の増減は投与20分後迄に時間経過と共に漸進的に起こり, それ以後はほとんど変化しなかった. 10⁻⁴ g/ml の濃度で PAL およびその誘導体は活動電位にまったく影響を与えなかった (図 1 C). 以上すべての薬物の効果は標本を正常 Tyrode 液で20~30分

* Clinical Pharmacology Department, Products Control Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.
〔昭和43年 3 月27日受付〕

Table 1. Effect of vitamin B₆ derivatives on the activity of the rabbit right atrium. The results show the values after the administration of those drugs (10^{-4} g/ml), respectively. All values are the mean $\pm$ S. E.

Drug	Heart rate (%)	Contractile tension (%)	Action potential (mV)	t ₉₀ *
control	100	100	117.3 $\pm$ 2.1	100
PAL	105 $\pm$ 2	153 $\pm$ 5	116.6 $\pm$ 1.6	97.2
PAL-azine	104 $\pm$ 1	90 $\pm$ 3	115.8 $\pm$ 2.6	98.5
PALP	95 $\pm$ 2	84 $\pm$ 3	118.8 $\pm$ 1.7	102.3
PAL-HCySH	97 $\pm$ 2	92 $\pm$ 4	119.2 $\pm$ 2.4	100.5
PIN-Ni	90 $\pm$ 3	76 $\pm$ 5	117.2 $\pm$ 2.8	96.9

* Time for decay to 90% value of the repolarization.

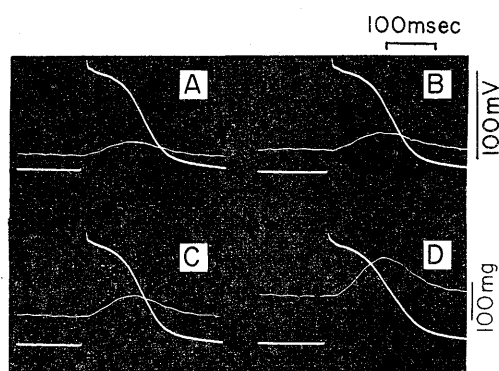


Fig. 1. Action potentials were recorded from a single fibre of the naturally beating rabbit atrial non-pacemaker area. A; control, B; 30 min after addition of 10^{-8} g/ml OH-B₁₂, C; 30 min after application of 10^{-4} g/ml PAL and D; 40 min after treatment with 2.5×10^{-5} g/ml BuTDS.

間洗滌することにより消失した。 10^{-8} g/ml の濃度の OH-B₁₂ は拍動数と収縮張力をわずかに抑制する傾向を示すが、膜電位には何らの変化も与えなかった (図 1 B)。 BuTDS は 2.5×10^{-5} g/ml の濃度が拍動数の減少と収縮張力の増強を与え、同時に活動電位のプラトーを延長した (図 1 D)。そして拍動数の減少とプラトーの延長は観察している間漸時進行した⁸⁾。

Levine, Smith と Clark⁹⁾ は摘出ウサギ心房筋に大量の PAL 1 mM を長時間作用させると、心筋細胞内に Na が蓄積し K が減少することから、PAL によってひきおこされる収縮張力の増強は細胞内電解質の移動に起因すると報告している。したがって PAL によって収縮張力が増強された際、細胞内外の電解質量によっ

て影響される静止電位に何らかの変化が生じる筈である。しかし本実験では静止電位の変化は全くみられなかった。これは恐らく本実験に使用した PAL の濃度が Levine et al.⁹⁾ のよりも少量で観察時間が短かったため、細胞内電解質量の移動が起こらず、Levine 等の結果と一致しなかったものと考えられる。また PAL やその誘導体が静止電位を全く変化させずに拍動数と収縮張力に増減を与えることから、これ等の薬物は細胞膜ではなく細胞内部の代謝経路に作用して、上記の効果を発現している可能性が強い。 BuTDS による収縮張力の増強は前報告⁸⁾ で述べたように、BuTDS が細胞膜と代謝経路に作用した結果生じたものと考えられ、プラトーの延長、拍動数の減少は BuTDS の細胞膜安定化作用に強く依存するものであろう。

本研究についてご校閲を賜った佐藤昌康教授 (熊本大学医学部第 2 生理学教室) に感謝します。

文 献

- 1) Holtz, P. and Palm, D. (1964) *Pharmacol. Rev.* **16**, 113
- 2) 団野 保・檜垣 鴻・中間元隆・山口容常・石川 勉・奥村健太郎 (1967) *ビタミン* **35**, 322
- 3) Akedo, H., Sugawa, T., Yoshioka, S. and Suda, M. (1960) *J. Biochem.* **47**, 124
- 4) Fasella, P. (1965) *Biochem. J.* **95**, 21 P
- 5) Christenson, H. N. (1955) *Science* **122**, 1087
- 6) Christenson, H. N. and Collins, S. (1956) *J. Biol. Chem.* **220**, 279
- 7) Ling, G. and Gerard, R. W. (1949) *J. cell. comp. Physiol.* **34**, 383
- 8) 赤池紀生 (1967) *日本生理誌* **29**, 145
- 9) Levine, R. R., Smith, E. R. and Clark, B. B. (1960) *J. Pharm. exp. Therap.* **128**, 159

[地方小学会報]

第13回生理学中部談話会

日 時 昭和42年 9 月25～26日

場所と当番 石川県山代温泉・山代荘 斎藤幸一郎・大村 裕

1. 高 F 液中における蛙縫工筋の脱分極性反応 竹田公久・大村 裕 (金沢大第2生理)

1. ウシガエル 縫工筋を無 Ca, 高 F Ringer 液に浸すと静止電位は低下するが, 内向電流で正常値まで過分極すると活動電位を発生するようになるので, 外液中の F は Na channel にはほとんど影響を与えないと結論される。

2. 10^{-6} g/ml のテトロドトキシンを加えるとこの活動電位はすぐ消失するが, 過分極した筋線維で経過の長い外向電流により自己再生的な, 全か無かの脱分極性反応がおこる。電流-電圧関係は低静止電位のときはかなりな範囲にわたってわずかな非直線性を示すだけだが, 過分極した筋線維では著しい anomalous rectification を示す。テスト・パルスで測った実効抵抗はこのときかえって減少しているので, この anomalous rectification は膜のコンダクタンス増加による脱分極性反応に起因すると結論される。これは Cl 透過性の上昇によるものであろう。

低静止電位のときしばしば全か無かの anode break response が起るが, その原因となる内向電流の終結は過分極した筋線維に外向電流を与えるのと等価で, この anode break response は前述の脱分極性反応と同じ機構で起ると考えられる。Anode break response の大きさは過分極の時間が一定なら過分極を増していくと S 字形に増加し一定値に近づく。過分極値が一定なら過分極の時間を増すと S 字形に増加し一定値に近づく。Anode break response では脱分極量が静止電位で制約されるので, この反応には過分極の大きさおよび時間のほか静止電位も影響する。

3. 筋肉をテトロドトキシンを含む正常 Ringer 液にもどすと全か無かの脱分極性反応は消失し, 時間が経つと anomalous rectification もなくなる。そして delayed rectification は正常より著しく小さく, 通電中, 時間とともに, また通電を繰返すことによって減少する。これは外液の F が delayed rectification を起す機構を抑制したことを示唆する。

2. カエル筋線維細胞内クロライドイオン活動度の直接測定

大村 裕・大山 浩・竹田公久・沢田正史 (金沢大第2生理)

先端の内部に銀鏡をつくった硝子毛細管電極は, 溶液中の Cl 活動度の対数に比例した電位を与え, 細胞に刺入することができる。この電極と通常の KCl 充填硝子毛細管電極とをウシガエル縫工筋 (速筋線維), および二頭股筋内の遅筋線維に刺入して, 静止電位と細胞内 Cl 活動度とを測定した。後者から膜内外の Cl 平衡電位 (E_{Cl}) を計算し, 活動度の表示とする。200 以上の速筋線維についての測定で E_{Cl} は静止電位よりやや大きな平均値と, かなり大きな偏差をもつ分布をしめした。両電位間の相関はあまり大きくない。すなわち E_{Cl} は静止電位より過分極側にあるものと脱分極側にあるものとある。この結果は Cl はかならずしも受動的に分布しているのではなく, 細胞膜に, 内向きと外向きの二つのクロライドポンプが存在することを示している。

二頭股筋中の遅筋線維についての少数の測定では, 元来低い静止電位よりも E_{Cl} はすべて脱分極側にあり, この線維では Cl はつねに内向きポンプの作用を受けていると考えられる。

3. 筋小胞体の ATPase 活性および Ca 結合に対する, 各種薬物のえいきょう

熊谷真忠・高階日出男・堀田 健 (名古屋市大第2生理)

春の日本生理学総会において, われわれは筋弛緩因子である筋小胞体の, Ca 結合と ATPase 反応の関係について報告した。筋小胞体 ATPase の K_m と V_{max} が大きいほど, Ca 結合は小さいことを認めた。このことは, 筋小胞体と Ca の結合体は, ATPase 反応の活性な中間体であるとみなすことができる。

今回は, 筋小胞体の Ca 結合能および ATPase 活性に対する, 各種薬物の影響について検討を加えた。K および Na イオンは, 多くの場合, 筋小

胞体の ATPase 活性には抑制的に、Ca 結合には促進的に作用した。しかし条件によっては、ATPase 活性および Ca 結合ともに促進した。また、PCMB の影響から、筋小胞体の Ca 結合および Ca ATPase の site は、少なくとも一つの -SH 基を含むと考えられる。このことは、筋小胞体の Ca 結合機構に、部分的にある種の能動輸送が働いていることを示唆している。これらの K および Na イオンに対しては ouabain は影響しなかった。

その他、生筋の contracture reagents である、cafein, DNP などの影響について検討したが、筋小胞体の ATPase 活性および Ca 結合には、なんの影響もなかった。

4. ミオシン ATPase 活性とアクチン相互作用の関連

堀田 健・藤田百合 (名古屋市大第 2 生理)

ミオシンとアクチンのフィラメントの相互作用とそれに伴う ATPase 活性はスライディングによる筋収縮の分子機構の本質的な反応であると思われる。われわれはミオシンのアクチン結合および ATPase site の関係について 2, 3 の実験を試みた。

低イオン強度でミオシンの活性可溶フラグメントである H メロミオシン (HMM) はそれ自体 ATP を分解する能力をもたないがアクチンと結合するとそれに比例して活性があらわれ Mg^{++} の存在によって加速される。また蛋白質間の相互作用は ATP の存在によって阻害され、これによって ATPase 活性すなわち収縮速度の調節が行なわれるものと結論される。

一方 F-アクチンと HMM complex 溶液の粘度は ATP の添加によって低下し、特にアクチンに比して HMM の多いときに著しく低下して F-アクチン自体の粘度より低くなる。光散乱の実験によっても同じような結果がえられた。このことは ATP はアクチン-HMM を解離させるのみでなく、F-アクチンをよりみじかいものにさせる傾向をもっていることを示している。

これ等の間の関連を速度論的取扱によって考え、これから筋原線維内で収縮の際おこっているであろうところの反応のサイクルを推察した。

5. 筋の粘弾性について

伊藤嘉房・尾山 修・伊藤佐紀子 (名大第 2 生理)

筋の非フック弾性および筋伸長時の粘性の変化を考慮して、筋の粘弾性を解析し従来の線形模型によってえられる結果と比較した。筋の質量による慣性の影響の程度はあらかじめ計算によって見積り、その影響が殆んど無いところにおける実験データのみを採用した。

この場合の非フック弾性とは、よく知られた筋の弾性の log 特性であり、静的に測定した T-l 関係 (T: 筋の張力, l: 筋の長さ) が、筋の粘弾性の弾性部分において、筋伸縮時にも成立するとした。又粘性は筋を伸張するときその速度に比例して低下し、弛緩するときまたは伸張を停止するとき回復するとした。

筋を直線的に伸張し延びが 2 mm となったとき伸張を停止し、それに応じて発生する張力の変化と、正弦波によって伸縮を与えたとき発生する張力の変化を解析した。

1. 直線的に伸張する場合

伸張開始時に T-t 曲線 (t: 時間) は早く立ち上りその後しばし上昇速度が遅くなって場合によってはコブを生ずるが、それは筋の静止時に粘性が大きい事、それが伸張にともなって低下して来ることによって説明される。

筋伸張中において d^2T/dt^2 は正となるが線形模型では負となる。筋の弾性の log 特性を考慮に入れると正となり、また粘性の変化を考慮に入れた上述の初期変動も d^2T/dt^2 を正に向けるように影響する。

2. 正弦波によって伸縮する場合

T-l リサージは変形楕円形となるが、その変化は非フック弾性および粘性変化によって説明される。

筋をあらかじめ伸張しておくときその伸張が大きい程、その位置で与えた一定の振巾の正弦振動に応じて発生する張力の振巾は大きくなるが、非フック弾性はその一因となる。

T-l リサージを描かせたとき、筋においては T と l の間の位相のずれに対する周波数の影響が、線形模型におけるよりもずっと少いが粘性の変化を考慮に入れた模型によってその状態を表現することができる。

6. 蛙筋紡錘の **Generator potential, prepotential** および **conductive impulse** の発生部位

伊藤文雄 (愛知学院大歯生理)

1950年 Katz が蛙の第4長趾伸筋の筋紡錘から prepotential および generator potential をはじめて記録した。その後 Ottoson 等は procain で軽く処理した筋紡錘を早い速度で伸長した時に出る初期の経過の早い電位を generator potential の dynamic component とし、その後持続的伸長中続く電位をその static component とした。しかしこれらの電位変化が何処から発生しているか未だに判明していない。この実験では蛙縫工筋内の筋紡錘からの求心性神経を受容器の極く近くで単一に分離し、これを paraffin gap を隔てて受容器側と中枢端側の両 Ringer 氏液中に入れた。この両液中からカロメル電極で電位差を誘導し、cathod follower amp. をとおして観察・記録した。

この求心性神経はcapsuleを通過後、最初のnode (N_2) で2本の有髄部(長さ150~200 μ)にわかれ、その先きは各々数本の無髄線維にわかれる。時には各2本の有髄部の先端で node (N_1) を作り2本の有髄部(長さ約100 μ)を経て無髄部になる。一方 N_2 から中枢側では普通 250~300 μ の有髄部を経て N_3 が、さらに 500~600 μ で N_4 があり、その後は約1mmの間隔で node が連らなっている(N_5 ……)。Procain でこれらの node を順番に麻痺するか機械的に pinch した結果、conductive impulse は普通 N_4 で起るが受容器が強く刺戟された場合には N_5 から起こりうる。 N_4 を麻痺した時 conductive impulse の約1/2の spike 電位 (Ottoson の dynamic component に相当) が発生するが、これは N_3 を麻痺すると消失する。これと同時に spike の立ち上り脚部の経過の遅い変化も消失するが、これは N_2 に由来しているものと推察される。一方 prepotential および generator potential は無髄部から発生しており、 N_1 がある場合には prepotential の一部がそこに由来している。

7. 蛙骨格筋中の **tandem muscle spindle** の反応

伊藤文雄 (愛知学院大歯生理)・尾山 修 (名大

第2生理)

Vihveline (1932) が兩棲類骨格筋内の筋紡錘中に、一束の錘内筋線維に沿って2~4ケの感覚帯が直列に連らなっていることを認めている。同じような構造を Gray (1957) は蛙の第4長趾伸筋内に見出し、spindle system と名付けた。また Barker and Cope (1962) は同じ筋で直列に連らなっていると共に並列にも位置していることを認め、哺乳動物での観察にしたがって (Cooper and Danier 1956) tandem muscle spindle と名付けた。

Tandem muscle spindle と single spindle との反応の差異について従来生理学的な検索がなされなかったのは同一筋内から両者の単一受容器の反応を分離できなかった為である。

蛙半腱様筋はこの種の実験に適する。この支配神経である坐骨神経枝または脊髄後根で神経を分割、機能的に単一求心性放電を記録する。この放電する受容器が tandem か single spindle かは実験後、無染色のまま顕微鏡下で識別することができる。

構造上 tandem spindle にも色々あり、1本の求心性神経線維の末端が直列または並列にならんだ2ケ以上の感覚帯に分布しているもの (Td) および直列に2ケ以上連らなっている感覚帯の各々に別個の求心性線維が支配しているもの (Ts) に大別できる。これ等の tandem spindle の錘内筋線維数が常に4本以上であるのに対して、single spindle (S) のそれが3本以下であるのも特徴的である。

筋を+0 mm 初期長 (生体内と同じ長さ) または+2, +4 mm から色々な速度 (1~10 mm/sec) で伸長し、2 mm に達すればその後数秒間その長さに保つ。この間の筋張力の変化、求心性放電およびその放電頻度を frequency plotter を用いて同時記録した。その結果は Crowe and Matthews (1963) にしたがって放電様式を分析した。43例からの平均で static sensitivity は Td で 13.3, Ts は 10.2, S は 5.1 impulses/sec/mm であった。Dynamic index も各伸長速度について常に S よりも Ts, さらに Td の方が高い値を示した。

8. 反復刺激の **M波・H波** について

中山昭雄・堀 哲郎 (名大第1生理)

表面誘導による誘発筋電図が潜時の短い kinetic と長い tonic の2つの活動電位のベクトル和であることはすでに報告した。

尺骨神経刺激による小指外転筋のM波を示標として, kinetic と tonic の強さ-期間曲線を描くとほぼ直角双曲線がえられ, tonic の方が高い閾値を示す。2発刺激では刺激間隔 4 msec においても第2反応に tonic の成分が明らかに認められる。しかし反復刺激では 25 cps 以上の頻度において, 約第5発目以後は tonic の成分が認められない。Kinetic の筋神経接合部の性質は tonic のそれと異なるのであろう。

1秒数回の繰返し刺激による腓腹筋のH波では, 第2反応以後の振幅が著しく減少することが知られている。この減少はしかしながら足関節を受動的に固定すると極めてわずかとなり, 被験者が強い随意収縮を行なっている状態ではほとんど減少がおこらない。反復刺激によるH波の振幅減少は臨床検査に用いられているが, その内容は反射性筋収縮による足関節伸展の難易, それにともなう G1A 求心性衝撃の変化を反映しているものと思われる。

9. ウサギの脳皮質刺激による嚥下および咀嚼反応

角 忠明 (信州大第1生理)

エーテルで麻酔したウサギの脳を露出し, その表層に微細単極電極を介して頻数電気刺激をあたえる。これによって嚥下あるいは咀嚼運動が惹起される領域, 両反応の特徴, これらに影響をおよぼす要因および口腔・咽喉部からの反射性刺激効果との相関などについて検討した。この実験の結果は次のように要約される。

1. 嚥下反応を誘起する脳領域は area postcentralis の前側部で, その大部分は咀嚼誘起領域と重畳している。

2. 麻酔深度, 刺激の頻数と強度あるいは刺激波の極性によって反応の様相が異なる。

3. 脳領域の両側同時刺激あるいは脳刺激と反射性刺激の同時適用により嚥下反応の顕著な facilitation がおこる。反射性刺激が強い場合には脳刺激による咀嚼反応が抑制される。

10. 嚥下および咀嚼運動誘起脳皮質領域の刺

激による舌下神経線維の活動

角 忠明 (信州大第1生理)

エーテル麻酔のウサギで, 脳皮質の area postcentralis を電気刺激して誘起される嚥下および咀嚼運動に伴う舌下神経線維の活動を追究し, これら2領域間の機能的連絡を検索した。また, 脳と咽喉・喉頭からの刺激効果の相関についても検討した。この実験によって, 上述の律動的活動の形成機構を解明しようとした。

1. 舌下神経線維の中には, a) 各刺激波と直接的対応関係を示すもの, b) 咀嚼・嚥下に同調した活動のみを示すもの, および, c) これらの中間形に属する反応を示すものが認められる。

2. 直接的対応関係を示す線維で測定された脳皮質と舌下神経線維間の最小伝導時間 (距離約 6 cm) は 5.8~12.0 msec (平均 7.8 msec) である。

3. 脳皮質刺激によって誘起される嚥下および咀嚼の律動に一致した舌下神経線維の活動は flaxedil 適用による動物非動化の後も依然として認められる。

4. 脳皮質と上喉頭神経の刺激を同時に与えると, 疎通あるいは干渉を示す現象が認められ, これは各線維によって異なる。

11. 視床下部ニューロン活動に対する薬物微小投与の影響

大村 裕・大山 浩・伊藤治英・小野武年・小林宣泰・橋川弘勝 (金沢大第2生理)

視床下部にある外側野 (LH) は摂食の, 腹内側核 (VMH) は飽満の中核である。また扁桃核は LH には抑制的に VMH には促進的にはたっている。エーテル麻酔下でラットの両中枢から単位放電を5連ガラス微小電極の1本から記録しながら他の4本から諸種の薬物やブドウ糖をそれぞれ電気泳動および電気浸透圧的に放出させてその効果を測定した。実験にさきだち C^{14} ブドウ糖放出と与えた電流との関係が直線的になることを確かめた。また刺激電極を扁桃核内に入れた。

1. ACh では LH で過半数のニューロンが促進され約3分の1に抑制がみられた。VMH では過半数に抑制が, 約3分の1に促進がみられた。また atropin は ACh に対し拮抗的に作用した。

2. ブドウ糖では LH ニューロンの小数に促進的あるいは抑制的に働いた。促進例では ACh

や NaCl で同じ変化がみられた。VMH では測定した約半数に促進がみられた。この例では NaCl で促進をきたすものはなかった。

3. Noradrenalin により LH ニューロンで促進的に作用をうけるものは ACh でも同様であった。VMH では促進と抑制がそれぞれ約半数ずつであった。

4. LH ニューロンは扁桃核刺激で大部分が抑制された。そのニューロンは ACh でも同じ変化をうけた。VMH では頻度増加をきたしたニューロンでは ACh でも増加をきたした。しかし刺激で減少したニューロンでは ACh でも抑制をきたした。また扁桃核刺激と ACh 効果は atropin で遮断された。

5. Glutamate と GABA はそれぞれ一般的促進物質および抑制物質としての作用を示した。

12. 下半身陰圧曝露による異常脳波の観察

御手洗玄洋・永坂鉄夫・森 滋夫 (名大環境医研)

意識消失を伴う頭尾方向 5～6 g 程度の遠心力負荷を急にやめると、その deceleration の間に脳波上癲癇発作波の出現することを Adey 等 (1961) が猿の実験でみとめて以来、特異な脳の反応として興味をもたれて来た。一方筆者等は、家兎の下半身を箱に密閉し、これを陰圧にすると遠心力負荷の場合と同様な脳波変化があらわれるとともに、それを常圧にもどす移行期にはまた、同様な発作波があらわれるのをみた。少くとも脳の反応に関するかぎり両者の効果はよく似た血流変化にもとづくと思われるので、種々の実験操作上好都合なこの下半身陰圧曝露 (LBNP) によって上記発作波の発現する条件を検討した。

この方法はすでに人の循環動態の観察に用いられているので (Brown 1966) それを参考にし、この実験ではとくに心拍数から推定した心代償の程度と脳波変化を比較した。

1. 無麻酔家兎は -60 mmHg までの LBNP 30秒間の負荷に容易に耐え、sensorymotor cortex では 200 μ V 前後、optic cortex では 50 μ V 程度の 5～8 c/s の律動波を示し、負荷をとると 2, 3 秒で恢復して上記の発作波はみられなかった。20分以上間隔をとればくりかえして同様な結果を得この arousal pattern のみをみた。この際

心拍数は負荷中急速な増大、直後に減少してのち恢復し、cardiac compensation を示した。

2. 家兎を麻酔したり、負荷をひんばんにくりかえしたり、-70 mmHg 以上にすると、脳波は上記の変化の上に徐波や速波が重畳し、またしばしば平坦化した。このような場合には頻脈反応は弱くなり、むしろ徐脈になることが多く、この状態で常圧にもどすとその経過中上記の発作波が出現した。つまり cardiac decompensation が負荷中にみられて始めて負荷直後の異常活動があらわれた。

あきらかに anoxic CNS への急速な血流帰環のため (Adey 等) と考えられても、その詳細な機序は不明で、この点種々の結果から考えをのべたい。

13. 単調弱刺激下に孤立された人の脳波の

2, 3 の結果

杉本助男 (名大環境医研)

減弱された光および音刺激を不変とした閉鎖室内に72時間、被験者を孤立させ、その間の脳波および行動の変化を観察した。今回の報告は、実験中に自発的に生じた各睡眠時の脳波比較を中心にした。

実験中、被験者と実験者の接触を皆無にしたため、脳波電極の装着等はすべて実験直前に行なわれ、実験中は電極接着の手なおし等、一切行なわなかった。被験者の行動は、テレビおよび一方向鏡により、72時間連続 1 分単位で、所定の行動記録帳に記入した。

被験者は時間を知る手がかりを失くされたため、また積極的な精神活動が制限されたために、実験中の睡眠は自発的に多発したが、脳波型からみた睡眠深度による各睡眠諸相は、かなり異なるものであった。すなわち、実験の前半には、Dement 等のいわゆる一般睡眠周期相が明らかにみられるが、後半ではこの睡眠周期相はかなり崩れ、高振幅徐波の連続的出現は殆ど観察できず、浅眠と覚醒の周期が主体となった。時間経過に対する被験者の主観的評価はかなりの個人差があり、したがって主観的夜と客観的夜は必ずしも一致しなかった。しかし脳波資料からみる限り、何れの主観的夜にも、一般の睡眠周期相や長時間の睡眠は認められず、客観的夜にはそれが明瞭であった。した

がって、72時間内に生起する自発的睡眠は生理的周期が優先していた。

睡眠時以外の脳波に関しては、その詳細はここでは触れないが、概して実験の進行と共に変動幅が狭くなり、 β 波や θ 波の出現が減少し、 α 波や θ 波帯域のものが増加する。 α 波帯域内では、小変動をもちながら徐波化の傾向が顕著にみられた。

14. 体温測定用小型トランスミッター

安藤 滋 (名大環境医研)

野生動物の生理値測定に用いる transmitter の備えるべき条件としては、

1. 小型軽量であること
2. 連続使用可能時間の長いこと
3. Transmitter range の長いこと

が要求される。これらのことは実験動物一般についても同様のことがいえるが特に広い行動範囲をもち、また再捕獲の難しい野生動物用の transmitter には厳しく適用されなければならない。演者は野生動物の体温測定用 transmitter を試作し好結果をえた。以下、その概要をのべる。

前記 1, 2 の条件を満たすためには回路はできるだけ簡単なものとし、部品数を少なくするのが得策である。このため発振回路はピアス CB 回路を採用し、ベース回路に C を挿入し、ベース電流を制御することにより間歇発振をさせた。間歇発振のため電池の消耗は大巾に軽減される。さらにこの回路にサーミスタを挿入することにより発振の duration を温度により可変とした。これにより逆に duration から温度を測定することができる。一般にサーミスタ以外にも C, R, Tr 等の回路素子は感熱性を有し、温度により容量、抵抗値等が変化する。このことはかえってサーミスタによる温度計測に支障を来す場合もあるが、この transmitter ではなるべく温度係数の小さい素子を用いることによりこの点を解決した。次にこの transmitter の諸特性を示す。

1. 発振周波数; 51.5 MC
2. 重量; 約 3 グラム (電池別)
3. 連続使用可能時間; 7 日間以上; 電池に M-1 N (約 8 グラム) を用いた場合
4. 測定可能距離; 使用受信器, アンテナ, その他により大巾に変わるが、およそ

300 m ~ 2 km

この研究開発は愛知県犬山市の日本モンキー・センターと共同でなされたものである。

15. ネオプレン・ラテックス法による腎血管構造と血液分布の研究について

藤本 守・田村喜弘 (岐阜大第 2 生理)

ネオプレン・ラテックスは合成ゴムの原料の一種であって、特にネオプレン・ラテックス・572 は速やかな可塑性をもち、血管鑄型を作製するのに極めて便利な材料である。今回はこれを鶏および鼠の腎血管内に注入し、その後、濃塩酸で処理して、その血管の鑄型を作製し、主として腎血管の走行を追究した。鶏腎は上中下 3 葉からなり、温血動物であり乍ら、爬虫類や両棲類などにみられる腎門脈がよく発達している。鶏腎門脈は外腸骨静脈や下肢静脈の枝が腎組織に流れるもので、それと後大静脈を結ぶ間に弁膜を有している。この弁膜は鶏の自律神経系の緊張度に応じて、その開閉状態を変化するらしい (交感神経刺激で開き、副交感神経刺激で閉じる)。腎門脈系の血液は明らかに腎尿管周囲毛細血管網に連なり、その毛細血管網は他方において固有の腎静脈に接続する。したがって一般的な意味での腎静脈には、腎組織に入っていく輸入静脈、および腎組織から出て来る輸出静脈の 2 種が存在するわけである。その他にも椎骨前の静脈洞に連絡する静脈分枝がある。腎リンパ叢もよく発達している (特に腎表層)。哺乳類 (ネズミ) の腎に比べて鶏動脈系は甚だ細く、3 葉別々に分布する。前腎動脈および、外腸骨動脈の枝として中腎動脈、坐骨動脈の枝として後腎動脈よりなる。これらは腎小葉に至って多数の糸球体を形成するが、その数は哺乳類に比べて割合少なく、その大きさも小さい。糸球体の分布は主として腎表層に近い部に多く、僅か乍ら皮質放線状の傾向をもつ。しかし鶏腎には明確な皮質と髄質の区別がみられない。糸球体の輸入、輸出細動脈は哺乳類に比べてやや細く長い。輸入細動脈は、腎小葉の中心動脈より出た腎小葉動脈の枝であり、輸出細動脈はやがて尿管周囲の毛細血管となる。この毛細血管は腎門脈系の小葉間静脈の枝に連なり、他方において、巨大な小葉中心静脈に注いでいる。ゆえに腎門脈系から物質を出入すれば、糸球体を経ずして尿管の血液灌流

を行なうことができる。

16. ベクトル眼振図およびその展開図法

竹中繁雄・渡辺 悟・田中由美子・近藤正彦 (岐阜大第1生理)

ベクトル眼振図, ベクトル心電図等リサージュ図形を観察する場合, それらは $x=f(x)$, $y=g(x)$ の2つの函数から $y=\phi(x)$ という時間を消去した図形をえるので, 継時的な変化としての取扱いではなくなる。従来, この欠点を補う為に, (1) パルスによって輝度変調をかけて楔状の印をつける。あるいは, (2) リサージュを進行するフィルム上に画かせる。という方法がとられていた。しかし, (1) はこまかな変化の場合には不向きである。勿論パルス幅を狭くすればよいが小さいと楔状の判別は困難になる。(2) はフィルム上の横軸は時間と x 軸すなわち potential との2つの成分が入った函数になり分析は一層複雑になる。そこでわれわれはリサージュ図形の展開法を考案した。

ベクトル眼振図は左右両眼の眼振図のベクトル描画であるが, これは左右の緩急両相の位相差および振巾の差を見るに都合がよい。緩急両相が同じ位相の場合には両相が同一直線上に重る。これらを識別する一つの方法として x あるいは y 成分の一方の増巾回路中に可変電気容量, 抵抗を挿入して既知の微分を行なってリサージュを變形することによって緩急両相の変化を見ることが出来る。他の方法としてリサージュの展開を行なう。すなわちリサージュのループ上にて tangent が無限大になる点にて符号 (位相) が逆転するようにして継ぎ合わせる。そうすれば x , y が同位相であっても二等辺三角形の底辺のない等辺の部分のみを作ることになり, 緩徐相, 急速相における変化を見るには一層都合が良い。

ベクトル心電図の如く複雑な図形の場合にも QRS 環, T環等のループの tangent が無限大の各点にて反転して展開すればそのリサージュの走行がベクトル成分を損うことなく観察することができる。

今回, このリサージュの展開は既成の増巾器, 刺激装置, スライサー, オシロスコープの組合せによって作成することができた。

17. 血管壁の応力緩和

東 健彦・長谷川正光・松田哲郎 (信州大第1生理)

イヌの太い血管についてその粘弾性的特性の静的測定をおこなった。イヌを nembutal 麻酔下で放血, 致死後, 大動静脈, 腸骨動静脈, 股動静脈, 頸動静脈, 肺動脈, 門脈等の太い血管を摘出し, それぞれのタテおよびヨコ方向の条片 (幅約 5 mm) を作製し, 血管の種類, 部位, 条片の方向等による応力緩和現象の変化を観察した。測定には万能引張圧縮試験機 (TOM-30J) および X-Y, T記録器 (AS 14-A, DS) を用い, 伸展速度, 伸展率, 伸展時間, 休止時間, 伸展反復回数等を一定に設定した。標本は $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の Ringer 液槽中におき, Poisson 比を 0.5, 血管壁の比重を 1.06 と仮定して dimension および応力の計算をおこなった。

応力緩和曲線の経時的変化は条片の方向によって著しくことなる。一般的にはヨコ条片では応力緩和が著明であるが, タテ条片では応力緩和の程度は極めて少なく, 粘性要素をほぼ無視しうる。例外は胸腔内大動脈および門脈, 頸動脈洞であって, タテ, ヨコ条片とも応力緩和は同程度におこる。腹部大動脈-腸骨動脈では移行型を示す。等伸長率の場合, 最大発生張力は, 動脈 > 肺動脈 > 静脈であるが, 下大静脈の横隔膜直下の部分は特別であって, 太い動脈の数倍の高い弾性率を示す。門脈のタテ条片は伸展によって周期30秒~2分の phasic contraction を発生するがヨコ条片ではこのようなことはみられない。この phasic contraction は Ach, noradrenaline 等で影響を受ける。

血管の応力緩和曲線は単一の指数関数では近似しえず, $t \leq 5$ 分の範囲では, $T'' = T_p \mu - A t^b$ が近似式として適当である (μ , A , b は定数, T_p : 最大発生張力)。

18. 血圧振動と脳血流量におよぼす延髄循環中枢の温度変化の影響

竹内 亨・牛山喜久・宮川 清 (信州大第2生理)

脳血行を1本の内頸動脈のみで支配させ, これに側圧負荷装置を介して側圧を加えると体血圧に

振動現象が催起される。この血圧振動の周期振巾に対する延髄温度変化の影響、同時に随伴する脳あるいは頭部血流量の変化を求め、これらを結びつけて血圧振動決定に関与する因子の追求を試みた。

実験動物に家兎を用い、全て橋の吻側寄りで脳幹切断を行なった。延髄の温度変化は、一定温度に加温または冷却された Ringer 液を持続滴下して起させた。延髄温度、脳血流はそれぞれサーミスター、電磁流量計を用い記録した。

1. 血圧振動の周期、振巾は共に延髄温度の上昇で縮小、下降で増大を示す。この延髄温度上昇に伴う周期の縮小傾向は、振巾、動揺水準が変わらない例においても明らかに認められる。

2. 側圧負荷実験前の脳血流速度は $0.15 \sim 0.2$ ml/sec 程度で、血圧振動に伴い、この血流速度は最小値 $0 \sim 0.05$ ml/sec、最大値 $0.3 \sim 0.45$ ml/sec の範囲内で変動する。この値は血圧振動の周期振巾とほぼ正比例して変化する。このように血圧振動発現時に脳血流は間歇的に流れているが、一定時間の総脳血流量は側圧負荷前のそれに比較して $20 \sim 100\%$ の増加を示す。したがって脳血管抵抗も明らかに減少している。

3. 脳血管抵抗は側圧負荷実験の継続にしたがい低下する傾向を示す。

4. 血圧振動発現時においても脳血流量は延髄温度上昇に伴って軽度増加する。

以上の如く、血圧振動の周期は延髄循環中枢の活動性が高まると縮小する傾向がある。また化学的因子に基因する脳血管抵抗の減少が血圧振動の発現を容易にし、振巾、周期を増大させるのに多少の役割を果しているように想定される。また血圧振動は脳血流量を確保するため大変有効な手段であり、脳血流が強度に阻止された状態における生体の一種の防衛機構とも解釈できるのではなからうか。

19. 脳血行完全遮断時及び血圧振動時の心拍出量の継時的変化

清水 強・牛山喜久・宮川 清 (信州大第2生理)

さきに著者らは色素稀釈法により、家兎の脳血行完全遮断時の心拍出量を測定し、それが遮断前の約 $1/3$ に減少することを発表した。したがって

この時みられる血圧の著しい上昇は少くとも心拍出量の増加によるものではないことを明らかにした。今回は電磁流量計を用い家兎の脳血行完全遮断時および血圧振動時の心拍出量の継時的変化を追求した。心拍出量の測定は自発呼吸のまま開胸して露出させた上行大動脈の流量を計ることによって血圧との関係において追求した。脳血行の遮断および血圧振動の催起には宮川の方法を用いた。

脳血行を完全に遮断すると血圧の急激な上昇と共に平均大動脈流量 (M. A. F.) は減少し、血圧の時間的変化に関連して特徴的な変動を示した。すなわち M. A. F. は血圧の半増期とほぼ一致して減じ始め、血圧の最初の山または増加率の急に減じる点で半減した。以後血圧はほぼ高原状を呈するが M. A. F. はさらに減じ続け、血圧の第2回目の山の付近で最低値を示した。脳血行再開後は血圧が半減する迄に M. A. F. は元に戻るがその間かえって元の水準より一時的に増す傾向がみられた。また徐脈の著しい時には stroke volume は必ずしも常に減少するとは限らなかった。

血圧振動時の M. A. F. の変化は基本的には脳血行遮断時とほぼ同じであり、一見体血圧の振動と逆位相の変動をみた。すなわち血圧上昇期の半波高時点から減じ始め血圧の頂点に一致して最低値を示し、血圧下降期の半波高時点迄に元に戻るという変化をくりかえした。

以上の結果から脳血行遮断時および血圧振動時の血圧上昇は心拍出量の増大によるものでないことを再確認した。心臓はむしろ血圧の下降期に意義をもち、また血圧のある程度の変動に対しては心拍出量を一定に保つように働いていると思われる。この時の心拍出量の減少の原因に関しては静脈還流量の問題を少しく検討したが、神経体液性および循環力学的な他の要因と共に今後さらに詳しく追求したい。

20. カイウサギおよびネコの食道筋電図と内圧 宇治一登・宮川 清 (信州大第2生理)

食道筋の構造は動物の種類によって著しい差異と特長がある。筋層の構築と蠕動波の伝播速度やその様式との関係については十分な究明はなされていない。これらの点を検討するため、実験動物には食道下部 $1/5$ を除いて、横紋筋から構成され

ているウサギと下部 1/4 が平滑筋からなるネコを使用した。Urethane または α -chloralose 麻酔下で頸部および胸部を切開し、食道が十分直視できる状態とした。電極は単極または双極（極間距離 1 mm）銀針懸垂電極を用い、open tipped 法による内圧測定用 probe は先端がオリブ状の特殊なものを使用した。記録は 1 cm 刻みに、食道の全部位から活動電位と内圧とを同時描記し、次の結果をえた。

1. 活動電位は食道横紋筋部では、ウサギ、ネコともに内圧変化と同期して出現する。

2. 活動電位の持続時間は、ウサギでは門歯列より 17~18 cm までは漸次延長し、それ以下ではやや急速に延長する。ネコでは平滑筋部を除いてウサギの場合のほぼ 10 倍の値を示す。

3. ネコの平滑筋部では内圧変化に 2~3 秒先行して、振幅 0.3~0.5 mV、持続時間 20~40 msec の平滑筋性の棘波が出現し、2.2~2.8 秒間持続する。移行部では横紋筋性の活動電位と平滑筋性の棘波とが混在する。

4. 嚥下時の蠕動波の伝播速度はウサギでは約 7 cm/sec であり、等速度で食道壁を下降し、約 2.5 秒で噴門部に到達する。ネコでは約 2 cm/sec であり、9~10 秒で噴門部に到達し、平滑筋部では部位的差異を示す。

5. ネコでは内圧変化の pattern は横紋筋部と平滑筋部では明らかな差異を示し、横紋筋部では数個の小山を乗せた特異な内圧変化が現われる。

6. ウサギの頸部および胸部に存在する伸展受容器からの求心性インプスを迷走神経から導出した。この受容器は遅順応型の伸展受容器であり食道内壁の伸展度と単位時間におけるインプス発射頻度とのあいだには相関関係がある。

以上の結果から、食道蠕動波の伝播速度や様式の動物による相違は、食道筋層の構築上の差異と密接な関連があるものと思われる。

21. 蛋白溶解酵素（高分子蛋白）の腸管吸収について

新田初雄・樺江 勇・伊藤乙彦・佐藤孝道・猪飼道彦・小塩昌洋・佐藤重孝・森本清治・宮地晴子（名古屋大第 1 生理）

蛋白溶解酵素製剤は臨床上広く用いられているが、その生体内作用機序等については未だ充分解

明されていない。本教室では蛋白分解酵素の一種である pronase-p について実験を用い、まず in vitro では pronase-p の腸管壁における透過性については家兎摘出小腸片の everted sack を用い、酵素の測定には plasmin 系の作用を除去した ϵ -ACA 加熱平板を用いた。その結果 pronase-p は腸管壁粘膜面から漿膜面に移行し、しかもこの pronase-p の濃度および作用時間に平行すること、能動輸送を抑制する ouabain では pronase-p の移行は低下しないが、KCN により完全に抑制されることを確かめた。したがって pronase-p はそれ自体高分子蛋白であるにも拘わらず、腸管壁を透過すること、ならびにこの透過は腸管壁細胞の機能に密接に関与している事が明らかとなった。次に in vivo では腸管吸収を確認する目的で家兎および人について免疫学的に抗体の検出（Ouchterlony 法、および免疫電泳法）、抗 pronase-p 作用の調査を行なった結果、静注・筋注では抗体の産生をみると同時に抗 pronase-p 作用の著明な増加を認めた。また、経口投与では家兎について 6~8 週投与では抗体は検出されなかったが抗 pronase-p 作用は増加の傾向を示した。人についても同様の結果がえられた。しかし家兎についてさらに高感度の capillar を用いた重層法を試みた所、経口投与後 1~3 週間において抗体の検出と同時に抗 pronase-p 作用の増強を認めた。これらの結果から pronase-p の腸管内吸収の可能性を推定することができた。

また生体内の作用機序については inhibitor が重要な役割を演じ、投与酵素は inhibitor と compound を形成して局所に移行し、炎症物質によって pronase-p が遊離されるものであろうことを提唱し、これについて論議した。

22. UX (kallikrein 類似作用) 物質の本能に関する研究

村上長雄・樺村純生・堀 清記（三重大第 1 生理）

村上等によれば、身体運動時、尿中排泄量の増大をみる UX 物質は疲労時に招来される血圧下降および蛋白尿発現に重要な役割を持つとされている。そして UX は hypotensive effect を持つ heat labile な高分子で kallikrein 様物質である。今回はさらに市販の kallikrein (Bayer) と人お

よび兎の UX との異同を調べるためこれらを Sephadex G 75 でゲル濾過した各 fraction についてそのものおよび Horton の substrate と incubate した sample の降圧効果およびモルモット回腸の収縮作用を調べた。Kallikrein および尿中の活性物質は、いずれも Sephadex G.75 により二つの活性部分 (heavy fraction と light fraction) にわかれた。Heavy fraction はそのものが、降圧作用を持つが、腸管収縮作用はない。Horton の substrate を短時間 (10分以内) incubate すると降圧作用および腸管収縮作用を示す。しかし長時間 (30分以上) incubate すると生じた活性物質は不活性化される。一方この fraction と bradykinin とを incubate すれば、bradykinin は不活性化される。したがってこの fraction は kininase をも含む。Light fraction はそのものではほとんど活性はないが、Horton の substrate と incubate すれば降圧作用および腸管収縮作用を持つ活性物質が生じた。そして長時間の incubate によっても活性の低下はほとんどなく bradykinin と incubate しても不活性化はわずかであった。Heavy fraction および light fraction と Horton の substrate とを incubate した時生じる活性物質は bradykinin と同様に chymotrypsin により不活性化され、trypsin 処理、100°C 10分の熱処理により活性を失わないので生じた活性物質はポリペプチドである。人および兎の UX は kallikrein と同一物質であると思われる。組織中よりも UX 抽出法で UX 類似物質が抽出されるがその活性は組織中に存在する inhibitor により不活性化される。そしてその活性は脾臓、肝臓、腎臓中に多量に存在した。

23. 部分メト化ヘモグロビンの酸素平衡について

宮下 敏 (金沢大第1生理)

Hb のメト化の程度と、それに伴う Hb の機能上の変化の量的関係については、希釈 Hb 溶液を用いての報告があるが、われわれは、より生理的条件に近い、溶血しない全血の状態において、Hb の部分メト化と、それに伴う運搬能の量的変化を、酸素解離曲線 (O_2 D. C.) 上の O_2 親和性の変化、および S 字状曲線の双曲線化への変化に留意して実験検討を行なった。

ウシ血液 (抗凝固剤にヘパリン使用) に、0.15 M $NaNO_2$ 溶液 (浸透圧 0.58) を適量添加することにより、適当な部分メト Hb を作成、これにメト Hb 還元阻止の目的で 4 mg/ml blood $\cdot NaF$ を添加した資料を作成した。上述の NaF 量にて、メト Hb 還元阻止に成功した。また添加 $NaNO_2$ 溶液と、それによって形成されるメト Hb の量的関係は、平均して、モル比で 1 : 1.1 の値をえた。一方、対照として、メト化させない正常ウシ血液、これにも同量の NaF を添加して、隔壁のあるトノメーターの両側に、部分メト化血液と対照血液を注入、37°C 恒温槽内で、資料を十分にガス平衡させて、部分メト化血液と正常血液の O_2 D. C. を作成して、両者を比較検討した。

実験の結果、部分メト化の程度が進むにしたがって、n 値 (Hill 式の n : ヘム間相互作用を示す) の低下、および、 P_{50} 値 (O_2 飽和度 50% に対する酸素分圧 pO_2 の大きさ : O_2 親和性の大きさを表す) の低下が見られた。部分メト化が 0 の時、すなわち、正常血液の n, P_{50} を 100 として、部分メト化血液の n, P_{50} を、その百分比で表すと、部分メト化が、2.0, 7.5, 20.9, 47.7, 78.5% について、n の百分比はそれぞれ、97.5, 88.6, 84.8, 68.8, 57.6, P_{50} の百分比はそれぞれ、100.0, 94.0, 83.7, 73.8, 60.3 で表われる。この百分比より明かに、部分メト化の程度が進むにしたがって、n 値, P_{50} 値が漸次減少していくのがうかがえる。換言すると、部分メト化の進行程度と、ヘム間相互作用の減少、 O_2 親和性の増加の間に、かなり明白な相関々係を認めうると考えられる。

24. In vitro における血液緩衝能について

石川克巳 (金沢大第1生理)

ウシ血液を PCO_2 の異った空気と 37°C でトノメーター内で平衡させ、遠心分離した。えられた、真性血漿と真性赤血球内容の pH と総炭酸を測定した。また、あらかじめ、ウシ血液を遠心分離してえられた分離血漿と分離赤血球内容を上と同様に平衡せしめ、その pH と総炭酸を測定した。血液、赤血球内容の Hb 量 (mM/l) と血漿蛋白濃度 (mg/l) も同時に測定した。これらの測定により、真性血漿、真性赤血球、分離赤血球と分離血漿について、それぞれ、緩衝曲線を求めて比較した。水分量 1 l 当たりの緩衝価 (mM/l per pH

unit) の大きさは分離赤血球>真性赤血球>真性血漿>分離血漿の順であった。

また、真性血漿と分離血漿の $[\text{HCO}_3^-]$ の差から血漿 pH の低下に伴い赤血球より脱出する $[\text{HCO}_3^-]$ の量は血液 Hb 1mM 当たり、 $d[\text{HCO}_3^-]/d\text{pH}_P = 1.20 \text{ mM}$ と推算される。Van Slyke により、 pH_P の低下に対する $[\text{HCO}_3^-]$ 増加の変化 $-d[\text{HCO}_3^-]/d\text{pH}_P = 7.7 + 2.2 [\text{Hb}] (\text{mM/l})$ であった。

なお、赤血球内容 pH_c と血漿 pH_P に $\text{pH}_c = 0.898 (\text{pH}_P + 0.704) \pm 0.02$ の式であらわされる関係を認めた。次に Rossi-Roughton の滴定曲線を赤血球内容について追試してみた。ウシ血液を分離、酢酸緩衝液 (pH 5.7) と生食水で洗い、 CO_2 free とした赤血球内容を溶血した。この溶血赤血球を一部は oxygenate し、残りは完全に deoxygenate し、両者を $\text{P}_{\text{CO}_2} = 0, 38, 50 \text{ mmHg}$ 前後の三条件で $2\text{N} \cdot \text{NaOH}$ を用いて滴定し、滴定曲線を作った。 $\text{P}_{\text{CO}_2} = 0$ の場合 O_2Hb および Hb の滴定曲線は一般に知られるとおり直線とみなしうが、 P_{CO_2} が高い場合には pH の増大と共に両曲線は上に凹に彎曲し、かつ相互に接近し、遂に交叉するに至る。これは carbamino 化合物の形成が P_{CO_2} の増加と共に増大し、かつ O_2Hb よりも Hb に多いことを示すと考えられる。

25. 筋運動の工率の計算について

上田五雨・柳平垣徳 (信州大順応医研)

筋に負荷 P のもとで、短縮 x 、短縮速度 V を起させる時、Hill の特性方程式では

$$(P+a)(v+b) = b(P_0+a) \quad (1)$$

が成立する。ここで P_0 は等尺性条件下で発生しうる最大力であり、 a, b はそれぞれ定数である。そこで、この関係から工率 $\frac{dv}{dt} = \dot{V}$ を求めると

$$\dot{V} = pv = \frac{v(bP_0 - av)}{v+b} \quad (2)$$

が求められる。これから工率の極値、すなわち

$\frac{d}{dv} \dot{V} = 0$ 、なる点を求めると、そこでは

$$\frac{d^2 \dot{V}}{dv^2} < 0 \quad \text{であるから、特定の } V \text{ すなわち } V_E \text{ に}$$

対し、 $\dot{V}$ の極大値が求められる。そこでは

$$V_E = b(\sqrt{1 + P_0/a} - 1) \quad (3)$$

である。次に負荷零の際の最大収縮速度 V_0 と V_E を比較すると

$$V_E + b = \sqrt{\frac{a}{P_0 + a}} (V_0 + b) \quad (4)$$

が求められる。

いま $\sqrt{\frac{a}{P_0 + a}} = \lambda$ と記すと上式は

$$V_E + b = \lambda(V_0 + b) \quad (5)$$

とも記される。同じく、 $\frac{d\dot{V}}{dP} = 0$ を求めると、

勿論 $\frac{d^2 \dot{V}}{dP^2} < 0$ となり、その際の P を P_E と記すと

$$P_E + a = \lambda(P_0 + a) \quad (6)$$

が求められる。そこで、(5)、(6) をまとめると

$$(P_E + a)(V_E + b) = a(V_0 + b) \quad (7)$$

の如くなる。

これとは別に、(1) に V_E を代入すると

$$P_E + a = \frac{b(P_0 + a)}{V_E + b} \quad (8)$$

であるから、(6)、(8) より

$$a(P_0 + a) = \frac{b(P_0 + a)(P_E + a)}{(V_E + b)} \quad (9)$$

$$\therefore \frac{V_E}{P_E} = \frac{b}{a} \quad (10)$$

が求められる。したがって、最大工率を生ずる

V_E, P_E は特性曲線と勾配 $\frac{b}{a}$ で原点をとる直線との交点として、幾何学的に求められることになる。この方法は、最大工率 $\dot{V}_{\text{max}}$ の実用的決定法でもある。その値は

$$\dot{V}_{\text{max}} = \frac{b}{a} P_E^2 \quad (11)$$

で示される。

東邦大学医学部生理学教室史

沿 革

現東邦大学医学部の前身である帝国女子医専の設立初期の模様については、主として東京医大の若林 勲教授から種々の教示をえた。また戦中戦後の時代については、主として日本大学森 信胤教授および弘前大学中村勉教授から大部分の資料を頂いた。ここに感謝の意を表する。

東邦大学医学部の前身、帝国女子医学専門学校は大正14年(1925)額田 豊、額田 晋兄弟によって創立された。額田 豊は同時に日本大学に医学科を開設して、主としてその方に力を注いでいたので、帝国女医専の方は額田 晋が校長となって采配をふるった。このような関係で教職員の人事にも両校間の交流があったわけである。

日本の最近の歴史が一般に戦前、戦中、戦後および復興期と時代を分けて語られるのであるが、東邦大学も他のすべての大学と同様に日本の歴史の中に生きるものであるから、やはりこのような時期をはっきり区別できるような歴史を残している。さらにその中にある生理学教室をとって見ても全く同じことがいえるのである。いうまでもなく、生理学教室を主宰した教授や教室員の交替期は上に分けた時期と一致するわけではない。したがって教室の研究活動の色合いを中心として歴史を見る場合と、日本の歴史に動かされた教室の一般的動静を中心とする場合とでは、時期の分け方が異なる筈である。

東邦大学の場合には、研究室の歴史が比較的浅いので、研究活動の色合いというようなものが固定しているわけではない。今までは代々全く別の系統の人達が教授として仕事をしたのであるし、またその勤続の年数も比較的短いのであるから、教室の研究上の特徴というものが目立たないのは当然であったと思われる。そこで、この40年間、日本の大きな動きと共にゆれ動いた現東邦大学生理学教室の一般的な変動を

歴史の時代にしながら述べる方が、この場合適当であると考える。

1. 設 立 初 期

(大正14—昭和9, 1925—1934)

1925年、設立当時の木造建物は、その当時未だ場末の感じの深かった大森一帯に可成り目立った建物であったと思われる。この一画に生理学教室があったわけであるが、初代教授として東大生理学教室から、鈴木正夫(前千葉大学教授)、山極一三(前東京医科歯科大学教授)の二人が赴任した。1週1回宛の講義で鈴木正夫が植物系、山極一三が動物系を受持った。

間もなく1926年、鈴木正夫は千葉医大に転任したので、後任として若林勲(現東京医科大学教授)がきて、講義も鈴木正夫のあとを受持った。

1929年、鉄筋コンクリートの本館が落成した。この建物は殆んど当時のまま現在も医学部本館として用いられている。生理学教室の位置もその当時のままであって、専門学校の教室としては可成り整ったものであった。実習用の器具も殆んど完備されていて、その当時用いられたキモグラフィオンやポテンシオメーター、エレクトロメーター、ガルバメーターなどの類が現在でも修理を重ねながらも役立っている。

しかしいうまでもなく、医学専門学校の立前として各教室とも研究活動には余力が注がれなかったし、教授も実質的には兼任であって講義と実習を受持つことがその責任であったから、当然研究の主体は東大にあったわけであって、その当時帝国女医専の生理学教室自体には特に研究上の業績というものはないといって良い。

このように教育上の設備内容は次第に充実しながら、山極、若林の講義は1934年までつづいた。この間1年数回、東大教授であった橋田邦彦が教壇に立って講義をしたが、もちろん分担が決められていたわけではない。

2. 戦前の時代

(昭和9—, 1934—)

昭和9年(1934)熊谷強助が日大医学科から専任教授として赴任した。熊谷強助は名大退職後日大の生理学教室を主宰していたが、この年、額田 豊の奨めによって、帝国女医専に移ったのである。ここではじめて実質的にも専任といえる教授ができた。同氏は家族を名古屋におき、自らは教室内の一室に宿泊していた。酒豪としてよく知られていたが、日大時代からの助手であった永沢 滋(現日大医学部長)を伴ってきていて、研究方面にも力をつくした。

この時期に教室の標本類、掛図類が整備されて実習室に備えられたが、これらの大部分は現在では殆んど用いられないので、昭和27年(1952)新制大学に切替えを機会に整理してしまったものが多い。

永沢 滋は熊谷強助のえ難い有能な助手であったが、その指導の下に脾臓の機能に関する研究を行なった。おそらく帝国女医専生理学教室で行なわれた実験研究としてははじめてのものであろう。

昭和11年(1936)には帝国女子医専雑誌が創刊されて原著論文も掲載されたが、その中に、脾臓と凝固に関する報告が載せられている。永沢の論文はそれより先、すでに愛知医学雑誌に引きつづき発表されていて、それによって昭和11年医学博士の学位をえている。

当時医専の教室で行なわれた研究が学位論文として提出されることはおろか、学会に出題することすら極めて稀な時代であったし、第一に研究室で実質的な仕事は殆んど行なわれなかったような状態であったから、永沢の活発な研究発表や、学位獲得は大へんな刺激となり、他の教室の活動をも大いに促したと思われる。その後永沢は助教授として内科学教室に転じ、教授であった杉原仁彦と共に、Taurin の薬理などについて発表しているが、間もなく日大医学科に移った。

永沢に代ってやはり日大から森 信胤が助

教授として生理学教室に着任した。昭和10年(1935)末である。はじめ生理学、薬理学教室兼担という変った役目であったが、実質的にはもちろん生理学教室で熊谷を援けたわけである。この頃学生のために、「生理学実習要項」を書いた。各実習項目に必要な物理化学の基礎事項や生理学総論の解説をつけ加えたものである。

森は昭和12年(1937)熊谷のあとを継いで教授となったが、同時に理研仁科研究室の嘱託として、「放射能の生理学的研究」を委託された。教室での研究も当然放射能関係のものであって、理研サイクロトロンによって作られた P^{32} , Na^{24} が主として用いられた。

実験は以上の放射性同位元素による追跡実験であって、当時わが国で医学方面の研究に isotop を用いたものはおそらく他にはなかったのではないかと思われる。したがって昭和12年(1937)に購入された Gaigar counter は医学部関係ではわが国最初のものであろう。

この一連の実験の最初の発表は昭和13年(1938)、京都での生理学会総会で行なわれた。「人工放射性 natrium を用いて行ないたる二、三の生理学的実験——動物体内における Na の動き」がその演題である。

その後も引つづきこの研究が行なわれ、その結果はそれぞれ、生理学雑誌、帝国女子医専雑誌、生理学評論などに発表されている。なおこの頃、森著「生理学通論」が出版された。

3. 戦争およびその直後

森 信胤が教授となってから、終戦までの間に、生理学教室には10人近い卒業生が助手として入れ替り仕事をしていた。1960年まで同教室講師であった北原藤子もその一人であって、当時森の実験を助けていた。

しかし戦争が次第に激しくなるにつれて、すべての研究活動が障害されたのは当然のことである。帝国女子医専が空襲を受けたのは昭和20年(1945)4月13日であって、本館以外のすべての建物および施設を焼失した。病院も鉄筋コンクリートの部分は外廓を残したけれども、内

部には火が入ってしまったので、もちろん病院の機能は完全に停止したわけである。生理学教室は本館にあったので、器具その他すべて無事であったけれども、到底実験などできる状態ではなく、講義さえ困難となったのは已むをえないことであった。

そこで基礎教室は学生と共に長野県に疎開して、まがりなりにも規定の講義をつづけたわけである。

疎開先はかねてから準備をしておいたので受入れその他に混乱はなかったが、八ヶ岳山麓の可成り広い範囲に分散して疎開したのであるから、講義に通う交通やその他の連絡など種々の不便があったことはいうまでもない。本部は臼田町にあったのであるが、ここから4 km は離れた富田村公会堂で1学年の生理学の講義が行なわれた。このために往復10 km 位を通わなければならぬ学生もあった。このような状態であったから、もちろん充分な教育ができる筈はなかったけれども、兎にも角にも講義をつづけることができたのは関係者の熱意と努力、疎開地の厚意によるものであろう。しかも同年12月には疎開地を引揚げて東京大森に戻ることができたので、学生に対する教育については、それほど大きな直接的損害はなかったわけである。

ところが戦争が、終って大森に戻ってからの方が、疎開先に居る時の条件よりはるかに困難な面が多かった。

焼失、破壊を免れたとはいえ、残った本館に学校の全員が収容されたわけであるし、そのうえ住居を失った職員が各教室の部屋に宿泊することになったので、その荷物その他で混雑を極め、また病院の焼残り器械や書物などもすべて持ち込まれたわけであるから、全く物置きのような状態であった。

生理学教室は一階であったので、余計にこのような宿泊、物置に利用される破目となったのは自然の成り行きである。

森 信胤も家族は岡山に疎開したままであったので、教室に寝泊りした。この頃食料、燃料

の欠乏が最もはげしく、盗難が相ついで起った。燃料になるような木製のものが最もねらわれたし、書籍も盗まれ、甚しいときは柱上の変圧器も持って行かれたりした。このような時でもその補充がなかなかできないために長い間停電したこともあった。

こんな調子で教室は荒廃するに委せられたようであった。その頃、台北大から中村 勉が教授として赴任して来た。昭和21年4月(1946)である。家族は津田沼の薬学科寮にあって、中村はやはり教室に寝泊りをした。

しかしもちろん教室の研究活動が再開できるような事情にはなかなかならず、相かわらず食料難、燃料難、盗難とのたたかいがつづいたわけである。これは程度の差こそあれ、日本全体の問題であって、どこへ行っても全く同じ悩みがあったのであるから、何とも手の下しようがなかったのであろう。

学生には教室に入って研究しようなどという余猶は精神的にも経済的にもなかったから、助手のなり手もなく、文字通り教授兼事務員兼助手兼小使という時代が可成りつづいたわけである。殊に同年森信胤は日大生理の第2生理学講座に赴任したので、中村 勉はすべての仕事を一人で引受けねばならぬこととなり、そのうえ、昭和22年(1947)からは旧制医大予科ができたので、その物理学の講義まで受持たされたのである。

このような不便さの中にあっても中村 勉は台北からの研究を継続した。蛇毒の curare 様作用についての研究である。

4. 戦 後

昭和24年(1949)、名大から朝比奈一男が赴任した。本来内科を専攻していたのであるが、戦後急激に重要視されてきた臨床生理学の講座を担当する目的であった。しかし事実は従来の生理学を中村 勉と分担することとなり、赴任の主目的であった臨床生理学はわずかに4学年後期に数時間割り当てられたに過ぎなかった。しかも専門学校の最後の卒業生が出てしまうと、

あと旧制医大の学生が4学年になるまでに4年間のブランクがあるので、その間臨床生理学の講義はなく、事実上開店休業ということであった。

教室自体も未だ戦後の混乱がそのまま持ち越されていて、落ち着いて実験に手をつけるような気運が盛り上らず、各教室とも閑散としたままであった。教室員は文字通り一人もなく、中村勉、朝比奈一男の二人で毎日専ら読むことに時間を過したのである。

講義は中村が動物系、朝比奈が植物系を分担してつづけることにした。中村は津田沼にある薬学部の講義をも受持っていたので、1週1回出張していた。

昭和25年(1950)になると、ようやく助手ができたのであるが、研究費というべきものが殆んどない状態であったので、研究室のあり合せの材料と器具で簡単にできそうな実験以外のことはできなかった。朝比奈一男の血清紋理や生体内の石灰沈着のメカニズムについての実験はこの頃のものである。

昭和27年(1952)旧制医科大学になっての最初の学年が4学年になった。そこではじめて臨床生理学の時間が割当てられた。時間数は僅かに10時間程度であったけれども、おそらく日本の各医科大学で臨床生理学の時間を作っていた

ところは殆んどない時代であったと思う。そしてこれが契機となって解剖、薬理、生化学、細菌などの基礎学科がそれぞれ臨床基礎学の時間を持つこととなった。これはそのまま昭和35年(1960)まで引きつがれ、4学年後期の時間として確立した課目となっていたわけである。基礎的な学科の講義が外国でのように臨床例を対象として行なわれるようになれば、わざわざ臨床基礎学というような時間を作る必要はない筈であろうが、従来の日本の医学教育では基礎学科と臨床学科とが余りにも確然と区別されているので、これは一種の過渡的現象ではあろうけれども現在のところ、臨床基礎学というような特別な時間が必要になるものと思われる。

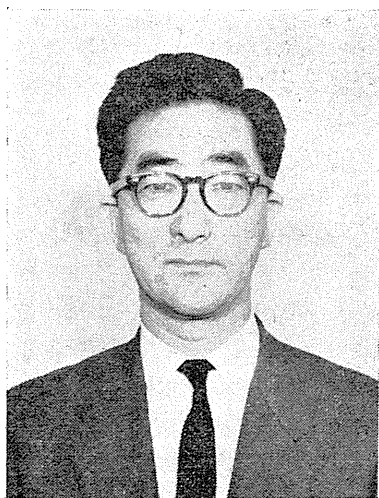
昭和29年(1954)朝比奈一男著「病態生理学」上、下、が出版された。これはもちろん基礎医学、臨床医学両者間の橋渡しの意味で書かれたものである。

このころからようやく教室も充実してその運行も軌道に乗ってきたように思えた。昭和35年(1960)まで講師であった北原藤子、中山みよ子はそのころ教室に入り、結合織の異物反応、体力医学にそれぞれ中心をおいて研究をはじめた。

昭和30年(1955)中村 勉は弘前大学生理学教室の第2講座開設のため、招かれて赴任したのでそれ以後再び生理学は一つの教室で担当することになった。しかし同年名大から鳥居鎮夫が助教授として来任したので、内容的には可成り充実したといってよい。

元来臨床生理学を目指していたので、内科を専攻していた鳥居鎮夫を助教授として迎え、いよいよ research bed を数個作って本格的に病態生理学の制度を実現できるものと考えていたのであるが、ただ一つの生理学教室のこととて、講義や実習も忙しく、それらと研究との連絡もうまくとれない点があり、また研究用病床も費用や、食事、付添、看護婦などの実際面で実現が極めて困難であったので、結局そのまま立ち消えとなってしまった。

そこで教室の仕事を臨床に直接結び付けるこ



朝比奈一男教授

とを一応断念し、それ以後は主として睡眠およびそれに関連した方向に研究を進めた。

助手陣容も整い、研究生も多数に入って、ようやく教室が活気付いたのはそれ以後である。脳波計、各種の増幅器、ブラウン管、刺激器、電気血圧計、オキシメーター、皮膚温度計、脳波分析器なども揃って、睡眠のポリグラフ実験も少しづつ進められた。一方動物実験のためにも Horsley-Clark の固定器、無音室、人工呼吸器などが入るとともにシールド室もほぼ完備して必要器具は一応整うことになった。

鳥居鎮夫は中枢神経研究の技術的な知識をうけるために東大脳研の生理研究室に通い、その研究を進展させて主として大脳辺縁系の機能について実験を進めた。

昭和34年(1959)大学院開設を期として慶応大学から塚田裕三が新任して、生理学教室もはじめてはっきりした形で2教室となった。同時に講師として平野修助が就任、脳の物質代謝を主題として研究を進めている。

講義は、従来のように動物系、植物系と区別せずに、両教室で分担し易いような分け方で、実習もまたそれに伴って受持つこととした。つまり両教室にある設備や器具の条件や、したがってそれぞれの研究室で行なっている実験に関連した講義や実習ができるようにしているわけである。

したがって実習項目の多くのものは、学生を研究室に入れて行なわせることになるが、この方法は種々の意味で大へん有利であるように思われる。また4学年の臨床生理学も、朝比奈と塚田が分担して行なうことになった。

昭和36年(1961)以後この臨床生理学の講義は時間割編成の都合もあって、他の臨床基礎学とともに中止することになったのであるが、これは基礎医学では各方面で講義内容に臨床的要素が取り入れられてきたし、また臨床医学の講義も基礎的事項を多く含む傾向が強くなってきているので、一応臨床基礎学の目標が達せられたという意味で、特別な時間を設けずにやろうという考えもあったからである。なおこの年

「病態生理学」改訂版が出された。

このようにして生理学教室は第一生理学教室(朝比奈)と第二生理学教室(塚田)になってそれぞれの研究方向をとっているのである。昭和37年(1962)以来、第一生理学教室では、従来どおり、睡眠およびスポーツ医学が研究項目として取り上げられている。昭和42年(1967)朝比奈著「ねむりの生理学」が出版された。

第一生理学教室現在(1967)の研究者

教授	朝比奈 一 男
助教授	鳥 居 鎮 夫
講 師	笹 岡 京 子
講 師	大 島 知 一
講 師	古 閑 永 之 助
助 手	中 川 功 哉
助 手	浅 野 勝 己
研究助手	4
研究生	7

(以上、朝比奈一男記す、1967)

第二生理学教室史

東邦大学医学部は大正14年(1925)帝国女子医学専門学校として創立され、戦後東邦大学と改称、昭和22年(1947)以後男女共学の新制大学として再出発し今日に至った。昭和33年(1958)医学部新制大学院の設置に伴って生理学の第二講座が新設されるに当り、当時 Rockefeller 財団の Research Fellow として慶大医学部講師より在外研究中であった塚田裕三が新任教授として選任された。Boston の Harvard 大学生物化学教室で Neurochemistry を専攻中であつた。塚田は教授就任の決定後欧州各国の研究教育施設をまわって昭和33年12月(1958)帰朝し当教室の建設を始めた。当教室は中枢神経系の生化学を中心課題として、この一つの研究目標を充実すべく先ず塚田がアメリカで開発した生体内物質の微量定量法に基づき中枢神経組織の超微量定量法の確立と、小動物での条件反射による脳の化学的変化の追求を研究の中心的テーマとして新しい教室づくりがなされていた。

このようにして塚田の下には慶大より平野修助、永田 豊、東邦大より松谷天星丸など少数であるが研究への意欲と情熱に燃えた若い人達が集まり、これらの課題に向って日夜設備の建設と研究を続けていった。

昭和34年(1959)平野修助は講師に昇任された。この間浅野、早川は研究生として神経化学の研究に従事し、学位論文を完成し目下専攻の医業に専念している。

教室の研究体制の確立を進める一方、学生の教育、実習に対しても全力をあげて充実を計った。昭和35年(1960)にはロックフェラー財団の寄贈により設備の拡充が計られた。研究の面も進展されるに従い、塚田は昭和35年5月(1960)には国際 GABA Symposium (アメリカ)へ、同36年8月(1961)には国際生化学会(ソ連)、国際神経学会(イタリア)等に出席し、海外との交流も盛んに行なわれるようになった。

また昭和35—36年には文部省科学研究班(総合)「中枢神経系の生化学的研究班」の班長として、あるいは生体における分泌と吸収機構の研究班等の研究担当者として、国内における神経化学の発展にもつとめた。

昭和36年(1961)東京で開かれた第4回神経化学懇話会の総会を主宰し、引続き同会の常任委員長として事務局を委嘱され、国内はもとよ

り国際的にも神経化学の拠点となった。

永田 豊は昭和36年12月(1961)より Rockefeller 財団研究員として米国ジョンスホプキンス大学生物物理の Larrabec 教授の研究室に2年間留学し頸部交感神経節での生理化学的研究に従事し、帰国後講師となり交感神経節のアミノ酸代謝の研究を進めた。

さらにまた平野修助は昭和38年4月(1963)より助教授となり、翌昭和39年9月(1964)より NIH (米国)の化学薬理部門の研究室に留学し、そこで Na-K-依存性 ATPase のタンパクの機能生化学的研究に従事した。この時代には海外への人事交流も大いに盛んとなってきた。

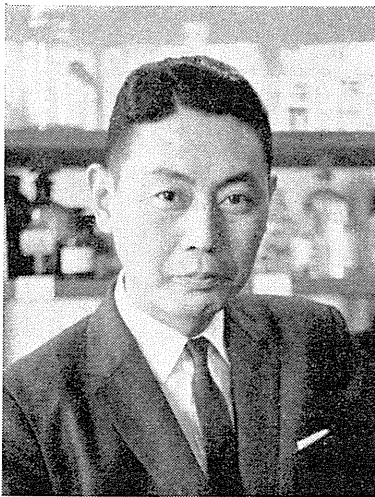
一方旧帝国女子医専の同窓会である鶴風会の有志は昭和37年(1962)に脳性麻痺の予防と治療を旗印として社会福祉法人鶴風会を組織し、東京小児療育病院を建設中であつたが、さらに本症の医学的基礎研究を行なうことも企画し、当時国内外で神経化学を中心とした脳研究者として活躍中であつた塚田裕三に脳性麻痺研究所長に就任(兼任)することを依頼し、当所開設を懇請した。

昭和38年5月(1963)に研究所設立準備委員会が発足し、昭和39年7月に建築工事が始められた。昭和40年4月(1965)には工事が一応竣工し、病理部門、生化学部門、臨床部門、疫学統計部門が開設された。

昭和40年(1965)慶応大学生理学の林謙教授が定年退職するに当って、塚田はその後任教授に選任され同年4月母校慶応大学に移ることとなった。しかし次期教授決定まで塚田は引続き兼任教授として東邦大第二生理学講座を主宰することとなった。

昭和40年3月(1965)当時の東邦大、医、生理学第二講座の研究スタッフは次の如きである。

教授 塚田 裕 三
 助教授 平 野 修 助
 講 師 永 田 豊
 助 手 松谷天星丸、植村慶一
 大学院生 野口鉄也、横井幸雄



塚田 裕三教授

研究生 浜 島 秀 典

介 補 松 沢 春 枝

生理学第二講座の教授は昭和40年10月(1965)米国 NIH より1カ年の留学を終え帰国した平野修助に決定し、塚田の後を承け第二代目の教授として教室を主宰することとなった。その間、植村助手と野口大学院生は慶応大、医学部助手として塚田教授のもとに移った。それに伴って教育、研究の充実を計るために塚田教授は引続き非常勤講師として講義を分担した永田豊は助教授に昇任した。松谷助手は前述の脳性麻痺研究所の生化学部長として転任し、東邦大では非常勤講師として学生の指導を担当することとなった。昭和41年4月(1966)に至り東邦大、理学部より1名の助手を加え平野は同年4月に開かれた医学会総会「脳と作用物質」のシンポジウムに参加し、さらに同年9月に持たれた日米神経化学会の observer としても同会に出席し、神経化学を中心テーマとして研究を進めている。昭和42年4月(1967)には永田 豊は慶応大・医学部助教授に転出し、一方新たに2名の助手が研究に加わった。

昭和43年4月(1968)現在の教室陣容は次のとおりである。

教 授 平 野 修 助

講師(非常勤)塚田裕三

講 師 松 谷 天 星 丸

助 手 渡部昌子, 中島昌子, 相馬紀夫

大学院生 戸 張 千 年

研究生 浜島秀典, 松原英多

介 補 松 沢 春 枝

第二生理学教室の研究の系譜

当教室は中枢神経系の生化学的研究を中心課題とし、これを大別して三つにすることができる。その一は脳の機能の変化に伴う脳内物質の変動を追求しようとする *in vivo* での実験であり、その二は脳切片を用いての *in vitro* における脳内物質の代謝の研究であり、その三は神経細胞におけるアミノ酸の active transport system を中心にした細胞膜の生化学的研究



平 野 修 助 教 授

である。

第一の課題については死後変化による物質変化を最小限に止めるために、塚田らによりすでに考案試作された特殊装置を用い動物を一定の脳機能状態のもとで液体窒素中で瞬間的に凍結固定する方法が用いられ、動物の条件反射、行動変化に対応した *in situ* での脳内物質の変化について生化学的検索が行なわれた。そして脳の興奮に対応してアンモニア形成の増大が、制止の過程ではグルタミンの合成が盛んになることを示した。このようにしてこれらの物質は脳の機能を追求するのに一つの有力な生化学的指標となりうることが明確となった。また動物(ラット)の条件反射の形成過程で、刺激に対応して脳内のアンモニアの処理機構が異なることを明らかにした(蛋白質, 核酸, 酵素 6 (3), 129-139, また昭和36年(1961)日本生理学雑誌 23 (251)。

そこでさらに脳の機能の変化に対応して量的な変化を受けるアンモニアやグルタミンが脳内において如何なる代謝過程を示すかを明らかにするために ^{14}C -ブドウ糖や ^{15}N -アンモニアの同位元素を用いる実験が開始された。その結果脳組織でのグルタミン合成系が神経細胞内の限局された特殊な代謝プールで営まれることが示唆された(生化学 34 (2), 63-68, 昭和37年, ま

た脳と神経 14 (6), 534-459, 昭和37年 神経進歩 6 (3) 掲載).

一方塚田, 永田, 松谷らは脳切片を用い medium 中に加えられたアミノ酸が濃度勾配に逆って脳切片内に能動的に蓄積される現象を詳細に分析し, 脳組織にのみ特異的に存在する GABA についても能動輸送系の研究を進めた (神経進歩 4, 487-495, また昭和35年 Nature 186, 474, 1960). このような脳切片におけるアミノ酸のとり込み現象は生体膜における物質の能動輸送の一つのケースとして, また複雑な脳機能を *in vitro* で追求する一つの指標となりうる事が期待された. そこで各種のアミノ酸についてそのとり込みの状態を比較検討 (生体の科学 11 (6), 281-287, 1960) すると同時に特に脳とゆかりの深いグルタミン酸, GABA についてそのとり込みを支配する因子 (無機イオン, アミノ酸の分子構造, 競合阻害, ouabain の問題等) について生化学的検索を進めた. また, 電顕像からもその現象に伴う細胞の形態学的変化を併せ追求した. さらにこの能動輸送系の担体を追求するために, 細胞分画法により膜の構成成分と見做される cytoplasmic particulates を生化学的にとり出し, その磷脂質における ^{32}P の代謝回転についても検討を行なった (酵素化学シンポジウム 15, 371, 1961, また生化学 34, 51, 1962 および J. Neurochem. 10, 241, 1963). またこのような条件でアミノ酸の輸送系における carrier の問題, ならびにアミノ酸の蓄積を抑制する ouabain の細胞膜に対する影響等について *in vivo* でも検索を進め, その一部を発表した (昭和37年, 日本生理学総会).

これと併行して *in vivo* における脳内グルタミン合成系が一個の細胞内の如何なる部分で行なわれるかを検討するために, 膜の細胞分画を行ない細胞内でアミノ酸の存在様式とその代謝に関与する酵素活性およびイオンの分布について検討を加え代謝系の局在と機能との関係について研究の歩を進めていった (昭和37年, 日本生理学会総会発表).

この間 GABA- $^{14}\text{COOH}$ を用い脳切片での

GABA の代謝経路や, 生体内に投与した時の体内分布を検討し GABA の生理的役割を明らかにしようとした (Inhibition of the Nervous System and γ -Aminobutyric acid: Pergamon Press Inc. p. 163, 1960, および神経進歩 4, 487, 昭和35年, また Nature 186, 474, 1960).

またこれらの研究の進展の基礎となる新しい技術の開発にも力がそそがれペーパークロマトグラフィーによるアミノ酸の分離定量法 (生化学 34, 63, 1962) が確立された.

脳のアミノ酸に関する研究はさらに広げられ, 各種の脊椎動物の脳アミノ酸が分析され, 高等動物ではその種族差に拘わらず一定のアミノ酸が同一の割合で存在していることを認め, 脳機能発現の上にこれらのアミノ酸が基本的な重要性を有することが考えられた (科学 31, (2), 89, 1961 および Comparative Neurochemistry, p. 179, 1964, Pergamon Press). 次に脳におけるアミノ酸代謝の研究は臨床的にも重要な問題を含んでおり, 外科, 内科から神経化学に興味を持つ若手が研究に参加するようになった. その人達によって頭部振盪による脳内アミノ酸の変化を調べた仕事もある (神経進歩 4, 505, 1960).

脳のアミノ酸の代謝と機能との関係をさぐるのにアミノ酸代謝異常と精神神経疾患との関連が注目された. すでにフェニルアラニンの代謝異常により, フェニルケトン尿症と呼ばれる精神薄弱が起こることが知られており, 脳の発育期のアミノ酸代謝異常が精神活動の発達を障害するものと考えられた. そこで実験的に動物 (ラッテ, サル) を高フェニルアラニン食で飼育することにより実験的フェニルケトン尿症動物を作ることが試みられ, この研究は生化学的には一応の成功をおさめた. そして特にサルの場合には学習能力の低下することも確め, このような動物を用い脳内の物質代謝と知能との関係を探る研究が進められていった (脳と神経 16, 747, 1964, また神経進歩 9, 467, 1965).

塚田が慶応大学生理学教授に赴任した後, 従来塚田研究室において確立された神経化学の方法, 内容を基調としてさらに研究が進められて

行った。その第一は能動輸送系を有する組織に、濃厚に、存在する Na-K 依存性 ATPase の生理化学的意義に関する問題であり、平野、横井らは先ずそのタンパクの可溶化を試み、超音波処理や硫酸分画、Disc 電気泳動法などにより部分的精製を行なった（第7回国際生化学会 Abstract 1-16）。

第2の問題はすでに以前より続けられていたアミノ酸代謝と知能発育の問題であって、平野、相馬らはフェニルケトン尿症サルに加えてプロリン血症サルを作成し脳のアミノ酸代謝、特に含硫アミノ酸代謝の異常が知能発育障害と密接に関連する可能性を指摘し、生化学的な研究を進めている（神経化学 Suppl. 117, 1967）。

また頸部交感神経節を用いての機能代謝の問題は永田らにより彼の帰国後も続けられ、節後

神経切断により起こった神経細胞の消失によって外套細胞の増殖が起こりアミノ酸の能動的輸送系が大きく変化することを明らかにしグリア細胞の特異性を明らかにしうる糸口をつかんだ（神経化学 Suppl. 56, 1966）。

一方脳切裁によって引き起こされるグリア細胞の増殖と代謝の変化との関連についての追求が外科の研究者の参加によって始められるようになり、反応性に増殖するグリア細胞の代謝的特徴について研究が進展している（神経化学 Suppl. 71, 1967）。

以上のように平野を中心とした新しい神経化学研究のグループが生まれ、臨床各科との連携のもとに脳の機能との関係についての研究を行っている。

（以上、平野修助記、塚田裕三加筆、1968）

附記：東邦大学は沿革にみられるように帝国女子医専として出発してから今日まで40年餘を経過した。生理学の専任教授としての初代は熊谷強助博士（名大医学部生理学教室史を参照のこと）で、2代は現日本大学医学部の森 信胤教授であり、3代がいまの朝比奈一男教授である。熊谷博士は日大医学部において私の前任教授でもある。イヌを用い心臓移植を行なったわが邦最初の人であるが論文をのこさないのは残念である。

森さんは私と日大で一緒にやってきたのでその生理学教室史にゆずるが、わがくにで戦さより以前に理化学研究所で放射性同位元素を用いてその生物学的作用を研究した最初の人である。

朝比奈教授はわがくにでは少ない臨床生理学の研究を続けている。いま、医学部長としてもつくされている。若い頃は日本アルプスに登られたりしたことを知っている。健康に恵まれて日本学術会議会員としても活躍してきた。中村 勉教授は北大の生理

時代から存じ上げている。台北帝大の生理にもおられたが、戦さの後は弘前大学の生理において佐藤教授（後に同大学学長）とともに研究を進め、また同大学医学部長としても医学部につくされた。

第2生理は塚田裕三教授により開講された。神経化学というわがくにの生理学者では稀にしかみられない研究に打ち込んできたが、東京で開かれた国際生理科学会議のころ慶大医学部の生理にもどって国際会議にもつくされた。その後を現教授平野修助博士がつがれ、神経化学の研究を進めている。

このようにみえてみると、40餘年の間に困難の中に苦しいおもいをしながら生理学者としてのひとすじの道を歩いてきたことがわかる。このような事情は、いずれの生理学者も経てきた道で、私が記憶しているだけでも関東大震災、また20餘年前の戦さ、その前の事変といったわがくに内外事情は誰にとっても苦しい。しかし私どもは生理学の道を歩いて行く。

（内山孝一記す）

[短報]

[会報]

第1回生理学教育委員会議事録

日 時：昭和43年4月4日

午後4時30分～5時40分

場 所：熊本大学教養部会議室

出席者：藤森（北大，委員長），内藺（東大，副委員長），田崎（東北大），横山（福島大），名取（慈恵医大），高橋（日本医大），真島（順天堂大），市河（昭和大），本間（千葉大），高木（群馬大），伊藤（名大），井上（京大），中馬（阪大），西田（岡山大），入沢（広島大），間田（九大），佐藤（熊本大）

（計 17名）

議事

1. 藤森委員長より，昭和42年10月福岡で開かれた第27回国立大学医学部長会議の席上，文部省大学学術局より配布された*「学生実験実習設備標準」に端を発し，昨年12月の東京また今度の熊本における生理学常任幹事会の審議を経て，なお同評議員会の承認をえて**，この委員会が組織されるにいたった経過が報告された。

2. この委員会の任務については，常任幹事会また4月3日午後開かれた生理学将来計画委員会，同シンポジウムでも論議されたが，まず緊急になすべきことは，文部省がその「設備標準」に基づいて現在の国立大学に対して学生の実験実習設備費を今年も大蔵省に要求する方針であるので，医学教育の現状に鑑み，今年度の概算要求手続に間に合うように本年6月までに，(1)関連基礎医学会と連絡し，その協力をえて，基礎医学実験実習設備費の特配がうけられるように文部省対策その他を講ずること，(2)その過程において実習設備費が2,000万円を越える二，三の学科があるのに生理学の設備費が最低に近い僅か700万円程度であるという著しいアンバランスを，一旦答申されたものは本質的には直せないといわれていても，何かと修正の方策を講ずることの二つであるということになった。

3. 関連基礎医学会に対しては，松田庶務幹事から連絡，依頼してもらい，速やかに「合同教育会議の開催にこぎつけ，上記の対策を講じてもら

うことにするが，なにぶんにも緊急のため，もし関連基礎医学会の全部の参加がえられぬとか，あるいは種々の点で意見の一致がえられないばあいに対しても，生理学教育委員会としては，とくに上記のアンバランスの意味するところの重大性を考慮し，何らかの対策を考究していなければならないという意見がだされた。

4. 臨床医学教育方針が混乱状態に陥っている現状に鑑み，以上のほか関連基礎医学会としてもなるべく連絡，協力して速やかに準備態勢を備え，事前対策をたてることが望ましいものと思われるので，生理学教育委員会としても，極力前向きにこの方面から問題を拾い，資料を整えることは必要とみなされる。しかしそれらはすべて常任幹事会へ報告し，さらに将来計画委員会とも連絡を密にし，それらの問題の処理ないし具体的対策の樹立などは，この教育委員会の権限外として，常任幹事会の指示にしたがうことが妥当であるという話し合いとなった。

5. 第2回委員会は5月2日午前10時30分～午後3時（東大，赤門隣学士会館）とし，引き続き3時～6時に同所で「関連基礎医学会合同教育会議」の開催を予定する。

(備考)

* (1) これは昭和43年1月31日発行，文部省大学学術局編集「大学資料」第25号設備標準特集号として公刊され，文部省内文部協会から頒価400円~~円~~80円で購入可能である。

** (2) 生理学教育委員会の構成は，その後推薦をうけて宮川（信州大），岡（徳島大）の2人が加えられ，合計19名となった。

(3) この議事録は，主として欠席された教育委員への参考資料として作製されたもので，次回の委員会において修正を加え，その取扱いについて協議される予定である。

第2回生理学教育委員会議事録（案）

日 時：昭和43年5月2日

午前10時30分～午後3時

場 所 東大赤門横 学士館分館

出席者：藤森聞一・内藺耕二・田崎京二・名取礼二・高橋 恵・真島英信・市河三太・本間三郎・

高木貞敬・伊藤 竜・宮川 清・中馬一郎・岡
芳包・西田 勇・入沢 宏・佐藤昌康

(計 16名)

議事

1. 藤森委員長より、その後の経過報告として、

(1) 前回の熊本における第一回委員会の直後文部省を訪れ、関係課長および直接担当の課長補佐と話し合った結果、文部省の意向にその後の変化がないことが確められ、また関連基礎医学会の「合同会議」から要請があれば、文部省から説明におもむいてもよいという回答をえたこと。

(2) 松田庶務幹事から関連9学会(解剖、生化学、薬理、病理、細菌、衛生、公衆衛生、寄生虫および法医学会)に事情を述べ、「合同会議」をもつことなど協力を求めてもらったところ、全学会から好意的な回答が寄せられ、連絡委員の通知を受けたこと。

(3) 最近文部省から、医学部における臨床教育カリキュラムについての諮問がなされ、他方医学部長、病院長会議より、臨床医学のほか基礎医学、教養部教育問題を含めた地区代表教育委員候補者の推薦依頼があったことなど、この方面の情勢の動きについて報告がなされた。

2. 当日午後3時から同所で開かれる予定の「合同会議」の名称、運営方法などについても下打合せがなされたが、生理学教育委員会が推進力となって、「合同会議」が組織、運営されるように最善の努力をすべきであるという基本方針が確認された。

3. これまで他にも類同の委員会があったが、充分機能を発揮したものとはみなされず、したがって、文部省は諮問機関に諮問し、そこからの、充分練られたものとはみなされない答申に基づいて重大問題の処理が行なわれた結果、医学教育における今日の混乱状態が招来されたものとも考えられるので、「合同会議」が軌道に乗ったならば、その存在を関係諸方面に知らせることの必要性が説かれた。

4. 「合同会議」の当面の主目標は「設備標準」関係の問題処理におかれることになるが、関連学会の出かたによっては、基礎医学、教養部教育関係の基礎資料固めも行なわざるえなくなることも予想される。しかし、その具体的対策の樹立など

については、生理学会常任幹事会、将来計画委員会に諮り、この委員会に与えられた権限を越えないように注意すべき点について再確認がなされた。なお、「合同会議」とくに連絡委員が必要となったばあいには、藤森、内藺、高橋の3委員が当ることに決定した。

5. 今日までに寄せられた32校からのアンケートを整理して作製した、(1) 生理学教育現状と計画一覧表、(2) 現行生理学実習項目一覧表などを基礎として立案された。(3) 文部省の「設備標準」の修正原案、について審議し、学生80名として設備費総額約2千万円の、教育委員会としての修正案が作製された。

6. アンケートの各校の実習項目を通覧し、また送付された二、三の学習指針をみての印象として学生実験実習費の特配がうけられるならば、「生理学会編集」の実習指針の刊行の意義も考えられるという発言があった。

7. 生理学教育委員会の議事録は「日生誌」を通じて報告することが望ましいということになったが、同誌の頁数の制約もあるので、適宜割愛、変更は兼任の同誌編集委員に一任することに決定した。

8. 次回の委員会は5月28日(火)、午前10時半～午後3時、東大横内好仁会で開催のことに決定した(引続き同所で基礎医学会教育懇談会が開かれる)。

第1回基礎医学会教育懇談会議事録(案)

日 時：昭和43年5月2日

午後3時より6時まで

場 所：東大赤門隣 学生会館分館

出席者：三浦義彰教授(生化学会、千葉大学)
細谷英吉教授(薬理学会、慶応大学)、飯島宗一教授(病理学会、広島大学)、松林久吉教授(寄生虫学会、慶応大学)、内藤道興講師(法医学会、東京大学)

なお、出席の通知をうけた新島迪夫教授(解剖学、東京医歯大)、佐々木正五教授(細菌学、慶応大学)は欠席され、前田博教授(公衆衛生学、東京医歯大)からは衛生学会と共調されるが、学会中のため欠席の旨通知があった。

生理学会からは生理学教育委員 藤森(委員長、北大)、内藺(副委員長、東大)、田崎(東北

大), 高橋 (日本医大), 真島 (順天堂大), 市河 (昭和
大), 本間 (千葉大), 高木 (群馬大), 伊藤 (名
大), 宮川 (信大), 中馬 (阪大), 岡 (徳島大), 西田
(岡山大), 入沢 (広島大), 伊藤 (熊大) の15名の教
授が同日午前からの生理学教育委員会に引続いて
参加した。

議事

1. 藤森教授から, この会議が計画されるに
いたった経過が報告され, この会の運営方法につ
いて諮られた結果, 1年交替で各学会が世話係を
やることとし, さし当り今年は生理学会が担当し
たらよからうということになり, 藤森教授が世話係
(主任) として司会することになった。

2. 臨床医学会とも本来提携協力すべきである
が, 今年度の概算要求に間に合せるという切迫し
た状態においては時間的に無理と思われる。な
お, 文部省からも臨床と基礎とでは, この方面で
も多少の相違が考えられるとの示唆があったこ
と, さらに, 目下臨床面にはより切迫した問題も
あるので, 今年は先ず関連基礎医学会だけで連絡
をとり, 突破口をつくるやり方は, 止むをえない
との意見がだされた。

3. この「合同会議」の名称は, 現状では「基
礎医学会教育懇談会」とするのが穏当であるが,
今後関連基礎医学会にそれぞれ「教育委員会」が
組織されたばあいには, 「基礎医学会教育委員会」
のごとき名称が望ましいという話し合いとなっ
た。

4. この懇談会の基本的なあり方について,
「今日まで文部省, 関係諮問機関その他の組織の
とってきた態度実績と, 今日の医学教育の混乱状
態とをみると, この懇談会はなにも諸方面に遠
慮, 気がねをすることなく, 基礎医学教育のあり
方の基本問題をとりあげて論議し, 対策の樹立に
努力すべきであって, 学生実験実習設備その特配
の申請などは第二義的な問題である」。「文部省の
諮問に応じて臨床教育時間が著しく延長し, その
しわ寄せが基礎医学教育, 波及するおそれがある
現在の緊急事態をこそ重視すべきであって, 基礎
医学実習教育の強化も, 基礎医学教育をいかにす
べきかの vision の上にたって考慮されるべきで
あるというような強い意見が劈頭から述べられ
た。

しかし種々論議の末つぎの諸項目について意見
の一致をみるにいった。

(1) 学生実習設備等については, 文部省がせ
っかく自発的にその特配を考慮して下されている
のであるから, はなはだしく貧弱な学生実習設備
の現状に鑑み, 好機を逸することなく速やかにそ
の実現を期するよう努力するのがよいと思われ
る。

(a) それには, 各学会が次回の懇談会まで
に, 文部省の「設備標準」にそれぞれ手直しを加
えて持ちよること。

(b) 関連基礎医学会の代表者の連名による
学生実習設備費の特配についての文部省大学学術
局長宛の申請書原案を, 世話係が次回の懇談会ま
でに起案し, 手続の準備を進めること。

(2) 基礎医学教育のあり方の基本問題の検討
は, その重要, 緊急性に鑑み上記と併行に進める
ことにする。ただし, この懇談会が重大な議決を
しようとするばあいには, 学会によっては, その
学会のしかるべき機関に諮る必要があろう。な
お, さしあたり次回の懇談会には, 上記の「学生
実験実習, 設備標準」問題を含め, 文部省の担当
者に来会してもらい, この方面の説明をうけるこ
とにする。

5. 会員の多くが医学者でない学会では, この
ような問題の処理上困難のあることが推測され
る。しかし, オブザーバー形式でもその学会から
の参加が願わしく, また, この懇談会には各学会
から代表者1名参加というよりは, なるべく複数の
参加が望ましい, という話し合いとなった。

6. 同様な目的をもつ他の組織機関とは, なる
べく連絡を密にし, 協調してゆく態度が望ましい
という意見がだされた。

7. 結論的には, 単独学会としてもとりあげよ
うとしている多くの重要な問題があるので, 関連
基礎医学会がこのような懇談会をもって協力して
ゆくことは, きわめて有意義であるという点で意
見の一致をみた。

8. 次回の懇談会は5月28日(火), 午後3時~
6時, 東大構内好仁会で開催のことに決定した。

備考: 各学会のこの方面の担当者(連絡者)名,
連絡先は下記のとおりで,

学 会 名	担 当 者 名 (敬称略)	連 絡 先
(1) 解剖学会	新 島 迪 夫 (医科歯科)	東京医科歯科大学第2解剖学教室
(2) 生理学会	藤 森 聞 一 (北 大)	東大医学部生理学教室内 日本生理学会教育委員会
	内 藺 耕 二 (東 大)	
	高 橋 恵 (日本医大)	
(3) 生化学会	三 浦 義 彰 (千 大)	千葉大学医学部第1生化学教室
(4) 薬理学会	細 谷 英 吉 (慶 大)	慶大医学部薬理学教室
(5) 病理学会	飯 島 宗 一 (広 大)	広島大学医学部病理学教室 (または東大医学部病理学教室内 日本病理学会)
(6) 細菌学会	佐々木 正 五 (慶 大)	慶大医学部微生物学教室
(7) 寄生虫学会	松 林 久 吉 (慶 大)	慶大医学部寄生虫学教室
(8) 法医学会	井 上 剛 (金 沢 大)	金沢大学法医学教室
(9) 衛生学会		
(10) 公衆衛生学会	前 田 博 (医科歯科)	東京医科歯科大学公衆衛生学教室 (または新宿区花園町78 公衛ビル内日本公衆衛生学会)

〔書評〕

The Cerebellum as a Neuronal Machine :
Eccles, J. C., Ito, M. and Szentágothai, J.
 著 ; Springer-Verlag, Berlin · Heidelberg ·
 New York, 1967, 25×17cm, 335頁, 165図 (そ
 のうちカラー図 11コ) (¥ 7,140)

中枢神経系の生理学は次第に解明されてゆきつ
 つあるのに依然としてその機能が明確にわからず
 われわれをなやましていたものの1つが小脳であ
 った。運動の協調とか平衡の保持に関係した機能
 を営むことは知られていたが、その詳細な分析や
 小脳の構造との関係については十分明らかでなか
 った、本書の3名の著者とその協同研究者は小脳
 の構造と機能について1962年以来劃期的な研究
 (本書の序言では discoveries という言葉を使っ
 ている)を行なっていて、1965年東京で開催された
 国際生理科学連合総会の joint symposium の1つ
 である「小脳のシンポジウム」でその成果が討議
 された。このとき、それまで著者らが得ていた多
 くの新知見をまとめ、小脳の機能に関する考え方
 の変遷を一書にまとめようということになり、本
 書の執筆が計画されたのであった。著者の1人1
 人についてはいまさら紹介を必要としないような
 方ばかりである、微小電極法を活用し個々の神経
 細胞の活動を明らかにし、これを電子顕微鏡所見

と対比しつつ小脳の機能を一挙に明らかにしたの
 が本書である。生理学者と組織学者の見事な協力
 によって初めてでき上がった書物である。

全部で15章より成るが、最初の6章は小脳皮質
 の構成要素の構造と機能、次ぎの2章は小脳への
 入力について述べられている。第13～14章は小脳
 からの出力の伝達され方について書かれていて、
 第9～12章はこの伝達様式を理解するための準備
 的解説といえることができる。そして最後の第15
 章は小脳をコンピュータと見ることができるだろ
 うかとの考えの下に全体のしめくりとなっている。
 もう少し詳しくと思ひ、各章の題を略述する
 と、第1章：小脳の構造の全貌、第2章：小脳求
 心線維の終末、第3章：平行線維、第4章：星状
 細胞・籠細胞・ゴルジ細胞とシナプスする神経経
 路、第5章：プルキンエ細胞とその応答、第6
 章：平行線維の興奮によってできる電場、第7
 章：小脳皮質への入力としての苔状線維とそれ
 に対するゴルジ細胞の抑制作用、第8章：同じく小
 脳皮質への入力としての登上線維とその機能、第
 9章：プルキンエ細胞の軸索側枝、第10章：小脳
 皮質の自発性活動、第11章：小脳皮質の神経要素
 の空間的な配置、第12章：小脳皮質の機能面から
 みた特徴的な構成、第13章：プルキンエ細胞軸索
 の抑制作用、第14章：小脳核からの興奮性信号、
 第15章：小脳をコンピュータとみることができる

か？ 以上のようなものである。このうち第13～14章は著者のうちの1人伊藤正男助教授を中心として、塚原・外山・吉田・小幡・有働等の東大生理の諸氏の研究によるもので、プルキンエ細胞が小脳核を抑制的に統御しているという新発見の成果を書いたものである。第15章は前述のように本書のしめくりであり、いろいろの入力を統合してその結果を脊髄や大脳に出力として送り出している小脳はあたかもコンピュータのようなものである。小脳の機能をこのように新しく考えるとき将来どのような研究をなすべきかと4点を挙げて結びしている。

最後に文献が12頁に亘ってのせられている。

類書が1冊もなく、小脳の専門的研究家としては著者ら3名のほかにはいくらもないという今日、本書の出現は世界の生理学界にとって真に歓迎されるべきものである。いろいろ問題を内蔵してはいるであろうが、本書は後世に残る不朽の書物の1つであるといっても過言ではないであろう。単に生理学の教室や研究室ばかりでなく、解剖学や薬理学の教室・研究室、さらに広く内科・外科・神経科等臨床の研究室等にも備えておくに値する書物と信じられる。

(市岡正道記)

A Primer of General Physiology, by R. V. Coxon and R. H. Kay Butterworths (1967)
p. 161. 20 s. (¥1,512)

著者は Oxford の人で Exeter College と Keble College の fellow である。教養課程の生理学を学

ぶ学生のために書かれており、生理現象の理解に物理、化学そして数学が如何に役立つかということを示そうとしている。将来これを学んだ学生が生理学を、生化学を、動物学を、あるいはまた医学の道を進むにしてもその出発点として理解すべき事柄について述べられている。

すなわち第1章においては、血液によるガスの運搬について化学的の面から、第2章にはその物理化学的な面から組織呼吸、肺におけるガスのやりとり等についてのべ、第3章は代謝一般につき簡単に、次で中間代謝について8頁でその概念だけを述べている。第5章から7章に涉っては膜の問題につき比較的頁を割いてのべている。水と電解質の透過、受動的、能動的物質輸送、そして興奮性膜について静止電位、活動電位を Hodgkin の説を元にしてかなり詳しく記述し、最後に30頁に涉って生体の自己調節機序、feed back 系につき、きわめて要領よくその原理から実際例について記述しているのは漸新である。全頁150頁に渉る記述は簡単に明瞭で、筆者は興奮性膜から feed back 系の項を興味深く読んだ。

Davson の名著 Textbook of General Physiology は、一般（基礎）生理学について詳細に述べられ、それと本書とは比ぶべきでない。が本書を教養課程の学生の教科書、あるいはサークルでの Sminor 用として推薦するにやぶさかでない。また生理学研究者にとっても緑陰での読みものとして一般生理学の知識を整理、系統づけて復習するのに最も手頃な読みものである。

(市河三太記)

〔編集後記〕

何とか7月号は7月中にという編集委員の切なる願いにもかかわらず、やっぱり本誌が会員のお手もとに届くのは8月になりそうです。昨年から発刊の遅れをとりもどす努力は絶えず続けられてきているのですがどうしても遅れてしまうのです。その理由は単純ではないようです。はじめのうちは原稿の集まりが悪いので印刷所に渡す期日が遅れるということが理由のようでしたが、最近では原稿の方はお陰様で順調に集まっているのです。要するに2号分の原稿を渡しても印刷所の方

が処理できないらしいのです。大したボリュームの雑誌でもないのに、2号分くらい何でもなかろうと思うのですが、あるいは「値段をつり上げるための手か？」などとカンぐりたくなるようなものかしさです。校了になってから印刷するまでの時間が異常に長いなど想像もつかぬことがあるわけです。最近ではそれでも7月号は一応7月中にできるようにしたのですからもう一息で、月のはじめにできるようになれば会員の手が届くのもその月内になると思われまふ。何とか今年のうちにその目的を達成したいものです。

×——×——×——×

最近の原著原稿のなかには、他の点で申し分なく書けているのに英文抄録だけが規定の200字を大幅に超過していて、それだけのために返送して書き直して頂くという手間をかけなければならないものが目につきます。英文抄録はそのままコピーしてカードにはりこめるという便益も考えて作って頂きたいと思います。

×——×——×——×

原著標題には国際十進分類番号がつけてありますが、最近いろいろな学術雑誌でいわゆる key words をつけるようになっていきますので、両者の得失などが論議されています。将来検討を要する課題となるかもしれません。

×——×——×——×

北大の藤森教授を委員長とする生理学教育委員会は4月以来活発に動き、各大学の生理学実習の現状調査とその分析を行なう一方、他の基礎医学学会の教育委員とも連絡して合同教育懇談会を生理学会が世話する形で発足させ、結局6月末には文部省大学学術局に基礎医学全体として要望書を提出するまでに漕ぎつきました。御苦労様でした。今後将来計画委員会とも連絡して生理学教育や基礎医学教育のあり方を考えるような立場の委員会が持たれることが要望されています。

ワシントンでの第24回国際生理科学会議も近づきました。会員諸兄姉の御健闘を祈ります。

(真島英信記)

正 誤 表 (30巻3号)

(熊本大学医学部生理学教室史)

頁	行	誤	正
207	右下から 2行目	双 壁	双 壁
210	左下から 13行目	(e)	(c)
211	右上から 6行目	末 だ	末 だ
211	右上から 11行目	466 名	686 名
212	右上から 9行目	手 助	助 手
213	右下から 2行目	1367	1967

日本生理学会会費お払込みのお願い

昭和43年度会費2000円何卒お払込み頂きたくお願い致します。前年度会費未納の方は特に至急お願いします。

なお、教室、研究所でまとめてお払込み頂きたいと存じます。

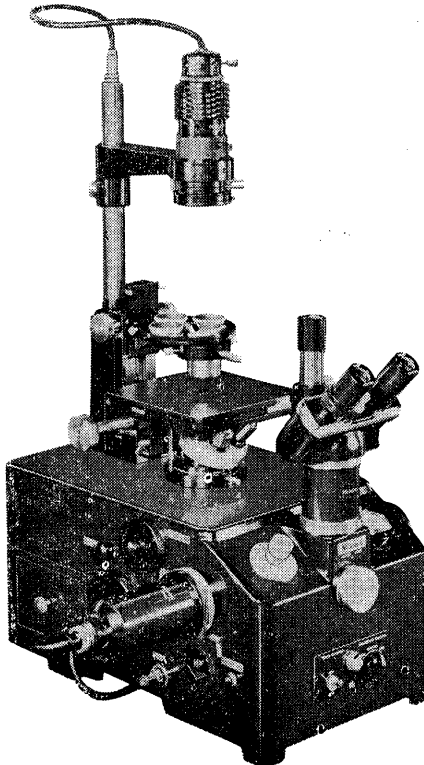
お払込みは必ず振替又は現金書留で願います(普通郵便に現金又は小為替等の同封は紛失の例があります)。振替用紙は本誌1号に挿入してあります。

東京都文京区(本郷局区内)本郷七丁目
 東京大学医学部生理学教室内(郵便番号 113)

日 本 生 理 学 会
 振替口座 東京 86430 番
 電話 812-2111 (代) 内線 6325

Nikon

倒立顕微鏡のよさを集大成しました



世界中の医学・生物学界からその完成が待たれていた、倒立顕微鏡の決定機です。従来の各種顕微鏡で開発し、磨いてきたニコン独自の技術を集大成…これまでの顕微鏡では不十分だった組織培養の観察などに、驚異的な機能を発揮します。

- 操作が簡単、安定性のあるボックス型
- 独自の光学系によるシャープな像
- 目の位置より低い合理的なステージ
- 鏡基前面の使いやすい微動ハンドル
- 付属の装置によりデータの挿入が可能
- 組織培養用の長焦点位相差装置付き
- 透過照明と反射照明の同時観察が可能

〈安価〉

セット A ¥1,601,100 / B ¥1,455,600 /
C ¥750,400 / D ¥645,300 / E ¥595,800

倒立顕微鏡MD型

販売代理店

株式会社 森田器械店	札幌市北八条西5の1	TEL (71) 3231-2・4649
株式会社 三啓	東京都文京区本郷2の17-7	TEL (813) 5501-5
株式会社 小沢製作所	名古屋市中区東袋町2の2	TEL (95) 5331
大阪光学機械株式会社	大阪市北区梅田7の3(梅田ビル5階)	TEL (312) 6031
猪原商会	広島市国泰寺町65の1	TEL (41) 2703-7737
大熊商会	福岡市馬出大学前1の1108	TEL (65) 4831(代)

新発売

動物実験に理想的な非動性が得られる

非脱分極性筋弛緩剤

2%ガラミン注射液“テイサン”

(1 ml中20 mgのガラミントリエチオダイドを含有)

〔特長〕

1. 理想的な筋弛緩が得られ、持続性あり、完全に可逆性。
2. 循環系に対して副作用が少ない、一過性に脈搏数の増加と血圧の軽度上昇をみるのみ。
3. 非常に安定で経年変化が少い。
4. 拮抗剤により拮抗される。

〔包装〕 20ml (400mg)バイアル

5ml (100mg)10管

販売

長瀬産業株式会社 化学品第二部

大阪市東区平野町3-6

製造

帝国化学産業株式会社

大阪市西区北堀江上通1-10(大阪中央ビル)

比色計の価格で 分光計の性能！

340～800 $m\mu$

合金鑄造の匡体中に密封されたモノクロメーターはリトロ式マウンティングで重フリントプリズム使用により340～800 $m\mu$ の範囲で常に高い分解能を示します。すなわち可視域中心部で波長巾5 $m\mu$ のスペクトル純度が得られます。他器と比較してください。

電源には本器のために開発した光電式定電圧回路を採用、 $\pm 10V$ の変動に対し0.3%におさえ、周波数変動の心配ありません。

検出管には光電子増倍管を使用しています。

吸収液槽は10mm角硝子、同時に4本セット。

分光光電比色計スペクトロー5



¥ 155,000

伊藤超短波株式会社

東京都文京区白山1丁目23番15号

電話 03 (812) 1216 (代表)

営業所 大阪市住吉区荻田町11の7 電話 06 (691) 1163

営業所 名古屋市中区大池町5の2 電話 052 (251) 3049

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 30, No. 7 (1968)

Review

Yoshinobu Kanno : Electrophysiology of epithelia 419

Originals

Hisashi Mihara : Fibrinolytic activity of cerebro-spinal fluid and the development of artificial haematomas in dogs 431

Yoshiya Shinagawa, Junko Okamoto and Chikao Uyama : Simulation of the human muscular movement by analog and digital computer. I. Running and walking 442

Takahumi Moriguchi : Analysis of the process of kinin-formation in the intrinsic system I. The kinin-forming property of strepto-kinase-activated plasmin 446

Takahumi Moriguchi : Analysis of the process of kinin-formation in the intrinsic system II. The mechanism of kinin-formation by plasmin activated with a large amount of streptokinase 457

Ryu Fukumoto : Physiological studies on plasminogen-activator (Bilokinase) found in hepatic of dogs 464

Yoshio Ishima : Change in property of the excitable membrane of embryonic chicken heart during the course of its development 472

Short communications

Ippei Hatakeyama : On the hydrodynamic amplification in vascular system 481

Shinji Itoh, Akihiro Kuroshima, Katsuhiko Doi and Keiichi Yoshimura : Plasma levels of free fatty acids in winter in relation to metabolic rate 483

Moto Matsumura : Contracture of a single crayfish muscle fibre 485

Hidekazu Mashima : On the resistance to quick stretch during contraction in frog's skeletal muscle 487

Tadao Kakegawa, Shigeru Matsuzaki and Kiyoshi Yamamoto : Effects of age and body weight on de novo synthesis protein in the anterior pituitary gland of male rats 489

Norio Akaike and Yoshio Kowa : Effect of vitamin B₆ derivative on the isolated rabbit atria 491

昭和四十三年六月二十日印刷

編集人兼
発行人

東京大学文京区本郷七丁目三の一号
東京大学医学部生理学教室内

内 菌 耕 二

印刷所
印刷者

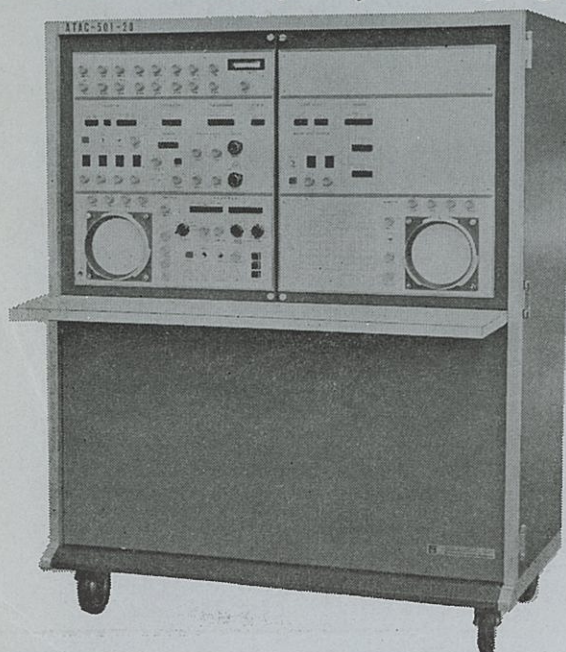
山形県鶴岡市山王町一四二四
平 田 貢
鶴岡印刷株式会社

発行所

東京都文京区本郷七丁目三の一号
東京大学医学部生理学教室内
日本生理学会

定価
振替東京八六四三〇
価 式 百 円

光電 医学のあらゆる分野に活躍する



データ処理用電子計算機 ATAC-501-20型

主なプログラム

- 加算平均
- 自己・相互相関
- 時間ヒストグラム
- 移送平均
- 振幅ヒストグラム
- データ移送
- メモスコープ
- 微積分
- プログラムプッシュボタン切換式
- On-line方式
- 出力アナログデジタル両方式



日本光電工業株式会社

東京都新宿区西落合1-31-4 (953) 1181大代