

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

原 著

- 水 沢 利 雄：レントゲン線照射初期の白血球増加反応に関する研究……………1
三 浦 き み：筋又は神経の興奮生起に関する化学的理論について……………14
箭 田 正 輝：体液酸塩基平衡調節作用に関する比較生理学的研究 (第1報) 酸注入時の蛙
の体液酸塩基平衡調節作用……………22
箭 田 正 輝：体液酸塩基平衡調節作用に関する比較生理学的研究 (第2報) 腎臓の
Glutaminose 及び Carbonic Anhydrase 含量の比較……………39
吉村寿人・箭田正輝・湯浅 実・桑田 努：蛙の尿 P_{CO_2} と血液 P_{CO_2} の関係に就いて……………45
関 園 子：カフェインの中樞運動系に対する作用並びに其機制に就いて……………53

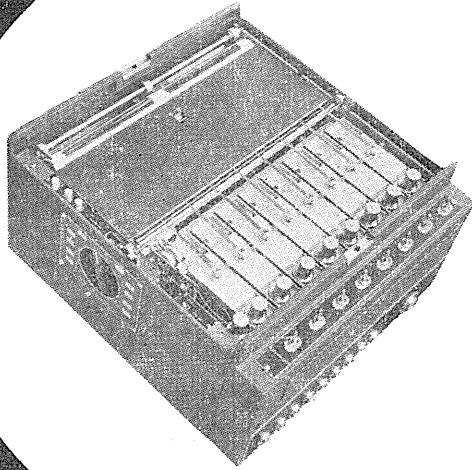
Originals

- MIZUSAWA-Toshio: A study on initial hyperleucocytosis to X-ray irradiation……………1
MIURA-Kimi: Chemical physiology of excitation of nerve and muscle……………14
YATA-Masateru: Studies on comparative physiology of acid-base balance in body fluid
(Part I) Regulation of acid-base balance in body fluid after acid load in frog……………22
YATA-Masateru: Studies on comparative physiology of acid-base balance in body fluid
(Part II) Comparison of glutaminase and carbonic anhydrase activity in
kidney among various animals……………39
YOSHIMURA-Hisato・YATA-Masateru・YUASA-Minoru・KUWADA-Tutcmu: Studies on
carbon-dioxide tension of serum in frog……………45
SEKI-Sonoko: Convulsive action of caffeine introduced into C. S. F. of dogs……………53

- 附：正誤表……………60
日本生理学会々費納入のお願いについて……………60

日 本 生 理 学 会

Physiological Society of Japan



インク書き オシログラフ

IR-201型

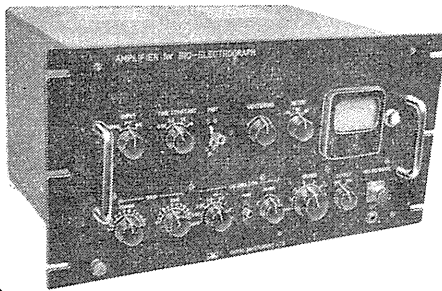
広範な用途・安定な動作

- エレメント数 2・4・6・8
- 記録ペンの最大振巾 $\pm 20\text{mm}$ $\pm 25\text{mm}$
- 記録速度の電氣的切換
1・2・5・10・25・50
125・250mm/sec
- 電源 AC100V, 50又は60c/s

生体電気現象

測定用増巾器 EB-101-Y

これは EEG, ECG, EMG はもとより、適当なトランスジェンサーを用いれば皮膚電気反射、呼吸曲線、指尖脈波等も測定出来るポリグラフ用の増巾器です。
ラックパネル式構造で、インク書きオシログラフ、ブラウン管オシロスコープ等と組合せて生体電気現象の記録が出来ます。



**an,ei
sokki**

主要製品

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

三栄測器株式会社

本社 東京都新宿区柏木 1-95 TEL (371) 7117-8・8114-5
工場 東京都武蔵野市吉祥寺 1635 TEL 武蔵野 (022-2) 7825・4941

レントゲン線照射初期の白血球増加反応に関する研究 612. 112. 12-063: 612. 014. 481

A study on initial hyperleucocytosis to X-ray irradiation

水 沢 利 雄 (MIZUSAWA-Toshio)*

To clarify the genesis of leucocyte increase noted in early stages of X-ray application, a 300r single dosage of X-rays was applied to rabbits all over their bodies and their initial leucocyte decrease reaction was studied. Also, seven chemicals having much to do with the central and autonomous nerve systems—phenobarbital, benzylimidazolin, adrenalin, pilocarpine, atropine, alcohol and mercaptoacetic acid—were used to pre-treat the rabbits to learn possible connections between these pretreatments and the leucocyte reaction.

1) Initial leucocyte increase reaction was generally noted 3 hours after the rabbits were given a X-ray irradiation. It was found that such increase is caused by adrenalin, pilocarpine, atropine and MAA, whereas phenobarbital, benzylimidazolin and alcohol serve restrict it.

2) Investigations into the effect of these chemicals on blood oxygen consumption revealed that those of the chemicals which facilitate the emergence of initial leucocyte increase and strengthen the tendency are all such oxygen consumption accelerators as adrenalin, pilocarpine, atropine and mercaptoacetic acid, whereas those helping to slow down the initial leucocyte increase reaction, i. e., benzylimidazolin, phenobarbital and alcohol, are all oxygen consumption retarders.

3) Hence it appears that initial leucocyte increase reaction to X-ray irradiation is not necessarily due to the pharmacodynamic effects of the said chemicals on the central and autonomous nerve systems but due to their general effects on blood or tissue respiration.

I. 序 言

放射線の生物学的作用つまり radiobiological reaction として白血球の消長は早くから注目され、多くの関心が寄せられてきた。そしてレントゲン線（以下レ線と略す）照射後の数時間の間に白血球増加反応が発現する事については、もはや疑う余地のないところである。

現在、この初期白血球増加反応の発現機序として

1) 中枢、自律神経系の興奮

2) 肝臓における白血球増加物質 (Leucocytosis Promoting Factor-L. P. F と略す) の産生

3) L. P. F の骨髄刺戟
の3段階を踏襲するものと考えられているが、しかしこの一般の見解にはなお検討さるべき問題が内包されているかにみえる。たとえば松本¹⁾は L. P. F が副腎皮質ホルモンの存在を前

提として始めて形成されることを明かにし、また森下²⁾はこの L. P. F が肝臓で産生されることおよび L. P. F の侵襲点が骨髄であると理解することに対して根本的な疑義を表明している。

著者らはこれらの諸問題の中、このレ線による白血球反応の発現機序における自律神経機能の態度に興味を抱いた。

由来、レ線照射と自律神経機能との関係は不明瞭である。そしてレ線による白血球増加反応が中枢性の調節を受けるという考え方は、腹部の神経切断動物においてこの反応が認められないことをその論拠としている。しかし Stress 学説を背景として生体反応を理解する立場からいうと、開腹の上、神経切断という Stressor の負荷動物を対象としてその検討がなされている点については大いに問題があると思われる。松本¹⁾はこの疑点を明確に指摘しているが、著者も亦同感である。

そこで著者はいわゆる初期白血球増加がいかなる機序を介して発現するものであるかという問題をいささかでも明かにするために、主とし

* 東京歯科大学生理学教室 (伊藤秀三郎教授)

Dept. of Physiol. Tokyo Dental College

[昭和35年9月21日受付]

第1表

(100r)

時間 家兔番号	0	1	3	5	7	9	24
1号	6,000	6,900	6,700	6,800	5,200	6,200	6,800
2号	5,400	8,000	6,100	5,600	6,100	5,100	5,800
3号	8,100	8,800	8,900	8,900	8,200	7,400	6,400
4号	7,300	7,400	7,700	8,400	5,800	5,200	6,900
5号	7,200	7,400	7,600	7,200	6,700	6,100	7,600
平均値	6,800	7,700	7,400	7,200	6,400	6,000	6,700
増加率(%)	0	+13.2	+8.8	+5.9	-5.9	-11.8	-1.5

(300r)

時間 家兔番号	0	1	3	5	7	9	24
6号	7,100	6,600	11,400	6,900	6,100	5,700	6,500
7号	5,700	4,400	9,800	8,300	7,000	7,300	5,700
8号	5,600	5,000	10,200	7,100	6,400	6,000	6,200
9号	6,200	7,600	14,400	9,300	7,400	7,800	6,700
10号	7,400	6,900	10,200	6,400	6,600	5,200	6,600
平均値	6,400	6,100	11,200	7,600	6,700	6,400	6,100
増加率(%)	0	-4.7	+75	+18.8	+4.7	0	-4.7

(600r)

時間 家兔番号	0	1	3	5	7	9	24
11号	6,300	6,500	6,400	8,300	8,200	6,800	5,500
12号	7,000	5,300	7,000	13,700	10,200	7,100	6,700
13号	6,600	5,000	5,200	8,800	6,400	7,800	9,400
14号	5,100	4,400	5,400	9,500	7,900	6,200	5,800
15号	5,000	5,200	3,500	10,700	9,800	7,600	6,600
平均値	6,000	5,200	5,500	10,200	8,500	7,100	6,800
増加率(%)	0	-13.3	-8.3	+70	+41.7	+18.3	+13.3

(1,000r)

時間 家兔番号	0	1	3	5	7	9	24
16号	6,100	4,200	4,000	6,800	7,200	9,400	5,400
17号	5,300	6,800	5,200	7,400	11,300	8,900	7,500
18号	7,600	5,900	4,400	6,700	8,400	7,800	5,000
19号	5,100	4,000	3,300	5,900	8,900	10,600	7,200
20号	6,400	6,100	4,100	5,200	10,200	8,300	6,100
平均値	6,100	5,400	4,200	6,400	9,200	9,000	6,200
増加率(%)	0	-11.5	-31.1	+4.9	+50.8	+47.5	+1.6

増加率(%) = $\frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$

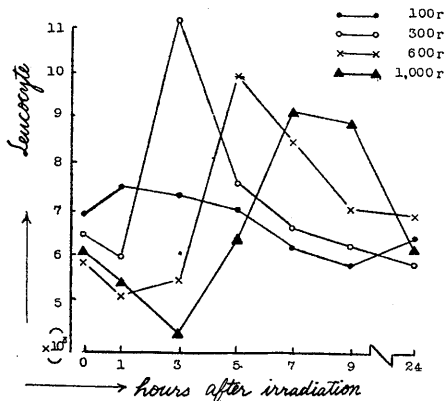


Fig. 1.

Difference of leucocytic response according to the irradiated doses.

て脳中枢および自律神経系に關与する化学物質を用い、これらの前処置による白血球反応の變化とその由来について若干の追究を試みた次第である。

II. 実験方法

実験動物としては体重 2.5 kg 前後の白色雌性家兔を使用し、一定飼料にて数日間飼育した後、実験に供した。白血球算定は慣用されている術式に従い、白血球算定用 Melangeur と Thoma 計算盤を用いてこれをおこなった。

また血液酸素吸収量の測定には Warburg 検圧計を用い、その要領は当教室でおこなわれていた方式³⁾に準じた。

レ線装置は東芝、K×C-17号で管電圧は180 KVP、二次電流 5 mA で濾過板は 1.0 mmCu + 0.5 mmAl であった。焦点皮膚間距離は 30 cm、照射野は 10×10 cm² とし、全身照射をおこなった。

また化学物質としては、Phenobarbital (50 mg/kg)、Benzylimidazolin (15 mg/kg)、Adrenalin (0.05 mg/kg)、Pilocarpine (15 mg/kg)、Atropin (2 mg/kg)、Alcohol (1.5 cc/kg)、Mercaptoacetic acid (15 mg/kg) などを使用し、これらの化学物質はレ線照射前10分に注射した。

周知の通り Mercaptoacetic acid は SH 化合物であるが、野口⁴⁾によると、これには Cholinesterase の増強作用があるものの如く、かような観点からとくにこれを取り上げ検討することにした。

なお実験例数は 5 例とし、血液酸素消費量の測定のみ 3 例でその平均値をもって図示した。

III. 実験成績

A) 照射レ線量の大小と初期白血球増加反応 (第1表, 第1図)

レ線照射量と白血球増加反応との関係は多くの先人によって明かにされているが、著者の実験条件で初期白血球増加が最も明瞭に認められる照射レ線量を決定するため 100, 300, 600 お

および 1,000 r の 1 回全身照射を試み、第 1 表の如き結果を得た。すなわち 100 r では照射後 1 時間目より軽度の増加傾向をみせるが、これはまだ白血球増加反応と呼び得る現象ではない。それに対して 300, 600 および 1,000 r 照射によっては確実な白血球増加反応がみられ、その発現は線量の増大に伴って遅延することを認めた。それと同時にこれらの初期白血球増加に先行する白血球減少反応もまた線量の増大に伴いその程度は高度となり持続時間は延長した。

更に詳細に検討してみると、300 r 照射による 3 時間後の白血球増加反応は増加率約 75% で 1,000 r 照射時よりもむしろ鋭敏であり、また増加に先行するいわゆる先行性白血球減少反応はより軽度であった。600 r 照射時には 3 時間まで確実に先行性白血球減少反応が持続し、5 時間目に増加率約 70% のピークがみられた。さらに 1,000 r 照射時には先行性白血球減少相が 3 時間後まで続き、7 ないし 9 時間目に増加率約 50% の初期白血球増加反応が出現した。

このように照射線量と初期白血球増加反応との間には密接不離な関係が窺われる。300 r, 600 r および 1,000 r の三者においては照射線量の小さな程先行性白血球減少反応が軽度で、それに続く白血球増加反応はむしろ増強する傾向をみせた (第 1 図)。

B) 300 r の連日照射による白血球増加反応の変化 (第 2 表, 第 2 図)

前実験で 300 r の 1 回全身照射時に最も明瞭な初期白血球増加反応がみられたので、以後、 γ 線照射条件としてこれを用うることにした。

そこで、この照射線量で毎日 1 回の反復照射をおこなうとき、初期白血球増加反応が如何に変化していくかを検討して第 2 表, 第 2 図の如き結果を得た。この図では第 1 日目, 第 3 日目および第 7 日目の白血球反応を示す。

この図から判断されるように、 γ 線の連日照射は漸次白血球そのものを減少せしめ、それと同時に初期白血球増加反応を次第に減弱せしめた。すなわち 3 日間の連日照射によって白血球の数は初日より約 20% 減少し、その初期白血球

第 2 表

時間 家兔番号	時間				
	0	1	3	5	
第一日目	21号	6,300	7,100	11,800	5,700
	22号	5,500	5,100	10,700	5,200
	23号	7,500	6,300	13,700	7,200
	24号	6,600	4,200	9,800	4,900
	25号	7,100	5,300	11,500	6,500
	平均値	6,600	5,600	11,500	5,900
増加率(%)	0	-15.2	+74.2	-10.6	
第三日目	21号	5,200	5,500	7,300	4,300
	22号	4,400	3,700	8,000	5,500
	23号	6,500	7,700	6,900	5,300
	24号	4,600	4,900	6,700	3,200
	25号	5,800	5,200	7,600	5,200
	平均値	5,300	5,400	7,300	4,700
増加率(%)	0	+1.9	+37.7	-11.3	
第七日目	21号	2,900	4,100	4,300	3,300
	22号	3,200	4,500	5,500	2,800
	23号	3,300	5,100	4,000	4,300
	24号	3,000	3,500	3,900	3,000
	25号	3,500	4,300	4,500	4,100
	平均値	3,200	4,300	4,400	3,500
増加率(%)	0	+34.4	+37.5	+9.4	

$$\text{増加率(\%)} = \frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$$

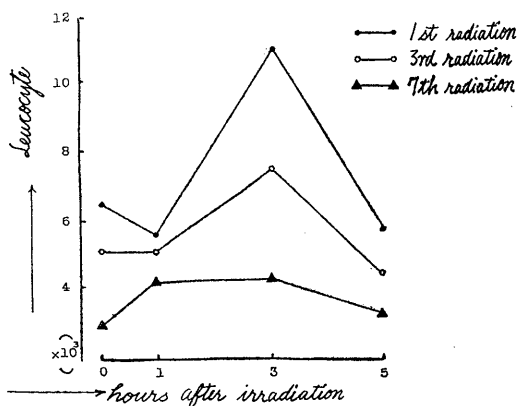


Fig. 2.

Changes of leucocytic response due to the repeated continuous irradiation (daily 300 r) to the whole body.

増加反応の増加率は大約半減した。更に 7 日目においては、白血球数は実験前値の 50% 近くまで減少し、この際の白血球増加反応はあたかも 100 r 1 回照射時の如く軽微な増加を示すに止った。

このように γ 線の連日照射によって白血球の

レベルが漸次低下し、また初期白血球増加反応がそれに伴って減弱してゆく現象は、いわゆる radiobiological reaction が白血球の生成組織細胞にまで着実に及んでいることを物語っている。

C) Phenobarbital 前処置時におけるレ線白血球反応 (第3表, 第3図)

脳幹麻酔剤と呼ばれる Phenobarbital (以下

第3表

対照	時間	0	1	3	5	7	9
	家畜番号						
対照	26号	10,400	7,400	7,700	12,500	11,400	11,200
	27号	8,800	8,600	7,900	12,700	12,900	8,700
	28号	7,800	5,500	6,500	9,700	11,900	7,800
	29号	8,400	7,800	10,400	13,200	12,300	10,600
	30号	6,600	6,700	6,500	10,900	9,000	7,200
値	平均値	8,400	7,200	7,800	11,800	11,500	9,200
	増加率(%)	0	-14.3	-7.1	+40.5	+36.9	+8.3
被検	31号	7,600	5,000	5,300	8,600	17,600	12,300
	32号	7,200	3,100	4,600	5,900	11,000	8,600
	33号	9,000	4,600	3,900	8,300	16,000	9,700
	34号	8,200	5,100	6,000	9,200	16,000	10,600
	35号	7,500	3,200	4,200	7,900	13,500	8,900
値	平均値	8,000	4,200	4,800	7,800	14,900	10,000
	増加率(%)	0	-47.5	-40.0	-2.5	+86.3	-25.0
	変動率(%)	0	-33.2	-32.8	-43.0	+49.4	-16.7

増加率(%) = $\frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$

変動率(%) = $\frac{\text{平均被検値の変動に対する百分率} - \text{平均対照値の変動に対する百分率}}$

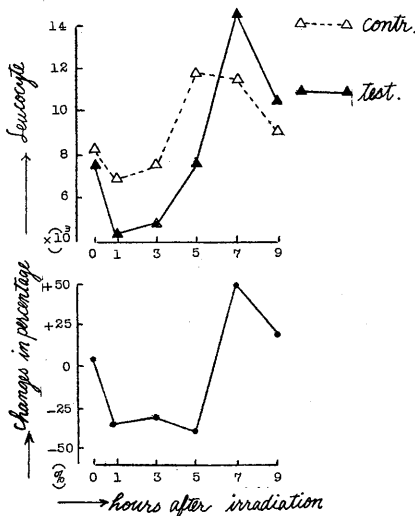


Fig. 3.

Effects of phenobarbital to the irradiated response (300 r) in leucocyte.

Ph と略す) を照射10分前に前処置し、これに 300 r の全身照射をおこなった場合、白血球反応は甚だしく変化した (第3表)。

すなわち、白血球においては3時間目の初期白血球増加反応が見られず、5時間まで減少反応を持続した。そして7時間目に始めて正常時の75%より僅かに高い増加率約86%の初期白血球増加反応が招来された。つまり Ph の前処置によって先行性白血球減少反応が増強し、初期白血球増加反応の発現は著しく遅延したと考えることができる。なお Ph のみによっても3時間まで軽度の白血球減少がみられ5時間目より増加反応に転ずるが、Ph 前処置時のレ線反応ではこの減少および増加反応がより一層強調されるのであると解することもできる (第3図)。

とにかく、Ph の前処置は正常な初期白血球増加反応を招来せしめず、初期白血球増加反応に先行する白血球減少相が約5時間にわたって強調されるのである。

後述の如く Ph はいわゆる組織細胞に対する機能障害的な作用を有することから、この場合の初期白血球増加反応の遅延は、脳幹麻酔の二次的な影響とも或は白血球増加機転に関与する組織細胞への直接作用ともいずれとも理解することができる。

D) Benzylimidazolin 前処置時におけるレ線白血球反応 (第4表, 第4図)

交感神経遮断剤といわれる Benzylimidazolin (以下 B. I と略す) の前処置によっても正常時とはやや異ったレ線反応がみだされる (第4表)。すなわちこの場合の白血球反応においては、1時間目より増加率約86%の白血球増加反応が出現しており、いわゆる初期白血球増加反応が先行性白血球減少相を先駆せしめず出現している。

しかし B. I のみによっても当初より白血球は増加し、とくに3時間目には増加率約30%に達する顕著な白血球増加が認められる。この対照の変動と比較すれば B. I 前処置のレ線反応はむしろ相当強く抑制されている事になる。この場合の1時間値において、B. I のみの値と B. I 前

処置レ線照射時との間にはそれほど著明な差は認められないが、3および5時間後ではそれぞれの変動率において大約82%ないし85%前後の差異が生じ、後者（前処置レ線照射）の条件下ではB.I前処置なしのレ線反応の消長に近い。要するにB.I前処置時のレ線反応は、1時間目においてはB.Iのみによる増加反応を、そして3および5時間目に於てはこれを抑制し、レ線照射のみの白血球反応を踏襲した経過を迎るわけである（第4図）。

このようにB.Iのみによって白血球は1時間

第4表

対照	時間 家兔番号	0	1	3	5	7
		56号	7,800	16,200	13,200	12,200
被検	37号	8,900	22,100	24,100	16,700	12,200
	38号	8,200	17,800	17,700	13,600	8,700
	39号	9,000	19,600	23,500	20,300	12,500
	40号	8,800	19,300	19,700	16,200	14,800
	平均値	8,500	19,000	19,600	16,200	11,600
増加率(%)		0	+23.5	+130.6	+90.6	+36.5
被検	41号	8,900	17,600	13,400	9,100	12,000
	42号	8,200	18,100	9,300	6,300	8,100
	43号	7,000	12,300	11,400	8,600	10,300
	44号	6,500	15,900	10,100	7,100	8,500
	45号	8,400	16,700	13,800	9,900	12,100
	平均値	7,800	14,500	11,600	8,200	10,200
増加率(%)		0	+85.9	+43.7	+5.1	+30.6
変動率(%)		0	-37.6	-81.9	-80.5	-5.7

増加率(%) = $\frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$

変動率(%) = $\frac{\text{平均被検値の変動に対する百分率} - \text{平均対照値の変動に対する百分率}}$

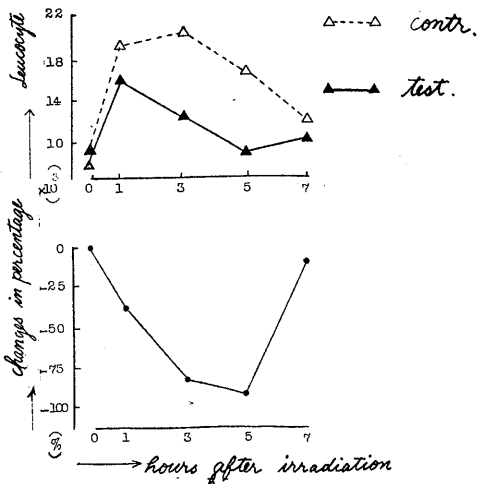


Fig. 4.

Effects of benzylimidazolol on the irradiated response (300 r) in leucocyte.

目より増加し、またB.I前処置の上レ線照射をおこなっても、この1時間値は先行性白血球減少相を示さずB.Iのみの場合と同様に増加値を執るから、この時期にはレ線照射の影響よりもむしろB.Iの作用が強く現われることになる。この現象をB.Iの薬理学的作用から判断すると、正常な先行性白血球減少相は交感神経の興奮によって発現するかの如く思惟されるけれども、しかし前述のPhでこれが強調され、後述する Adrenaline や Pilocarpine によって B.I

第5表

対照	時間 家兔番号	0	1	3	5
		46号	7,600	7,300	8,100
被検	47号	6,600	6,500	7,500	7,100
	48号	6,200	6,800	6,900	8,400
	49号	7,100	6,900	7,800	7,500
	50号	6,500	5,700	6,800	7,200
	平均値	6,800	6,600	7,400	8,200
増加率(%)		0	-2.9	+5.8	+20.6
被検	51号	5,200	11,200	6,400	5,800
	52号	6,500	9,300	7,300	6,100
	53号	7,200	14,100	10,100	7,600
	54号	7,000	12,700	8,200	8,800
	55号	6,100	13,200	9,000	6,700
	平均値	6,400	12,100	8,200	7,000
増加率(%)		0	+89.1	+28.1	+9.4
変動率(%)		0	+92.0	+19.3	-11.2

増加率(%) = $\frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$

変動率(%) = $\frac{\text{平均被検値の変動に対する百分率} - \text{平均対照値の変動に対する百分率}}$

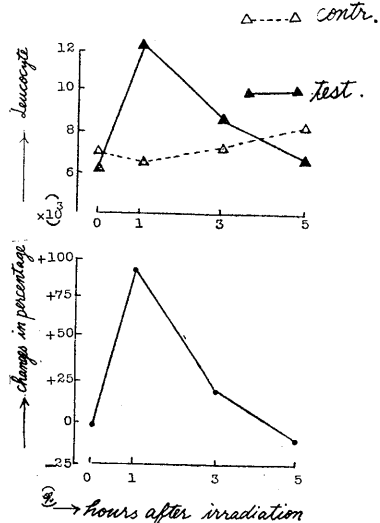


Fig. 5.

Effects of adrenalin on the irradiated response (300 r) in leucocyte.

と同様にこの減少相が消失してしまうところをみると、この考え方にはなお再考の余地が残されているようである。

E) Adrenaline 前処置時におけるレ線白血球反応 (第5表, 第5図)

交感神経刺激剤である Adrenaline (以下 Ad と略す) の前処置によって、レ線白血球反応は1時間目より約89%の増加率を示す点、B.I の場合と似ている。Ad のみの白血球に与える影

響は微弱であるし、またその反応型から考えると正常な初期白血球増加が即時に発現したものと解される。

この Ad 前処置時と前実験における B.I 前処置時の初期白血球増加反応は互いに酷似しているが、Ad のみ若しくは B.I のみを単独投与した場合の両者間には著しい差異がみられる。それにも拘らず両者は略一定のレ線反応型をしめすもののようであるが、周知の如くこの両化学物質は互いに拮抗する交感神経作用を有している。このような観点から考えると、初期白血球増加反応に交感神経機能がどの程度関与しているか甚だ疑問であるといえよう。

もっとも化学物質のみによる対照値の変動を考慮に入れると、B.I 前処置の場合にはレ線照射による白血球増加反応が抑制されたことになり、またこの Ad では確実に促進的な効果をもたらされる事になる。したがって交感神経系はこのレ線白血球増加反応を招来するために重要な役割を果しているかにみえるが、しかしそれでは次の Pilocarpin 前処置時の反応が納得できない。

第6表

対照	家畜符号	時間				
		0	1	3	5	7
照	56号	6,200	6,000	11,200	13,600	9,300
	57号	6,100	5,300	9,600	8,700	6,100
	58号	9,400	6,700	13,400	10,500	9,400
	59号	5,700	4,300	10,400	11,800	7,400
	60号	7,800	7,700	11,900	12,900	8,800
値	平均値	7,200	6,000	11,300	11,500	8,200
増加率(%)		0	-16.7	+56.3	+59.7	+13.9
被検	61号	9,200	12,100	10,600	8,100	9,700
	62号	7,200	11,600	6,700	6,700	7,500
	63号	5,700	13,600	7,900	6,200	6,800
	64号	8,100	10,700	8,200	6,400	8,800
	65号	8,800	15,000	11,600	8,600	10,200
値	平均値	7,800	12,800	9,000	7,200	8,600
増加率(%)		0	+64.1	+15.4	-7.7	+10.3
変動率(%)		0	+80.8	+41.5	-67.4	-3.6

増加率(%) = $\frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$

変動率(%) = $\frac{\text{平均被検値の変動に対する百分率} - \text{平均対照値の変動に対する百分率}}$

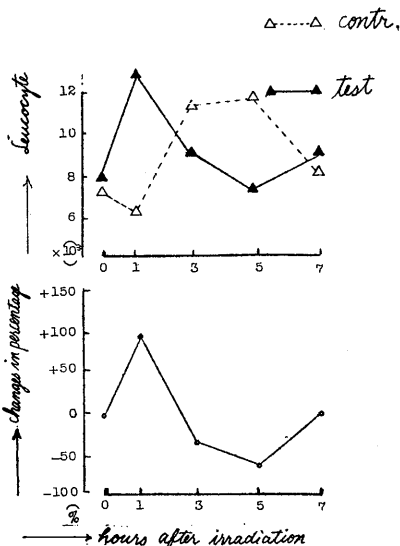


Fig. 6.

Effects of pilocarpin on the irradiated response (300 r) in leucocyte.

F) Pilocarpin 前処置時におけるレ線白血球反応 (第6表, 第6図)

副交感神経刺激剤といわれる Pilocarpin (以下 Pil と略す) の前処置によって前述の B.I および Ad 前処置の場合と比較的類似した白血球反応がみだされた (第6表, 第6図)。すなわち1時間後に初期白血球増加を招きその増加率は約64%に達した。ところが Pil のみによっては白血球は1時間目に於ては減少し、3および5時間後には増加を示した。

このように Pil 前処置におけるレ線白血球反応は、B.I および Ad 前処置時のそれと大差なく、多分に非特異的な反応型がもたらされる。いかえればレ線照射のみの場合にみられる3時間目の初期白血球増加反応は B.I, Ad および Pil の前処置によって1時間目の発現に切り換えられるのであるが、これらの化学物質が自律神経に及ぼす影響は三者各様である。

とにかく、これらの化学物質は白血球数に対

してそれぞれ独特の影響を与えるのにも拘らず、いずれの場合も略類似のレ線白血球反応を早期に発現せしめることは興味深い。

G) Atropin 前処置時におけるレ線白血球反応 (第7表, 第7図)

副交感神経麻痺剤といわれる **Atropin** (以下 **At** と略す) の前処置によって3時間目に増加率約120%に達するレ線白血球増加反応が発現した。この増加率はレ線照射のみの場合の75%

第7表

対照	時間 家畜番号	0	1	3	5	7
対照	66号	6,900	7,400	10,600	9,500	8,600
	67号	8,100	7,300	9,500	10,700	10,200
	68号	5,700	6,500	8,300	9,500	9,400
	69号	7,800	5,700	8,900	8,500	7,500
	70号	7,500	7,100	7,200	10,400	9,600
値	平均値	7,200	6,800	8,900	9,800	9,000
増加率(%)		0	-5.6	+23.6	+36.1	+25.0
被検	71号	7,200	10,000	15,800	10,500	8,100
	72号	6,800	9,200	14,400	13,300	12,200
	73号	7,100	11,800	18,500	12,100	10,300
	74号	5,500	7,200	9,500	7,400	8,800
	75号	6,100	8,800	13,500	10,400	9,600
	値	平均値	6,500	9,400	14,300	10,800
増加率(%)		0	+44.6	+120.6	+64.6	+50.8
変動率(%)		0	+50.2	+96.4	+28.5	+25.8

増加率(%) = $\frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$

変動率(%) = $\frac{\text{平均被検値の変動に対する百分率} - \text{平均対照値の変動に対する百分率}}$

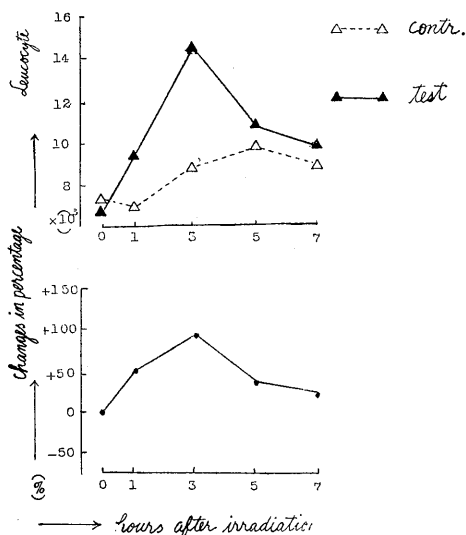


Fig. 7.

Effects of atropin on the irradiated response (300 r) in leucocyte.

より約45%高く、しかも正常時にみられる先行性白血球減少相はこの場合みだされなかった。At のみによる白血球数の変動は Ad のみの場合と大同小異で3および5時間後に若干これを増加せしめるが、この対照の変動を考慮してもレ線照射のみによる初期白血球増加反応より確かに増強の傾向が認められる。

H) Alcohol 前処置時におけるレ線白血球反応 (第8表, 第8図)

麻酔剤としての **Alcohol** (以下 **Al** と略す)

第8表

対照	時間 家畜番号	0	1	3	5	7
対照	76号	8,600	8,100	9,700	8,500	6,800
	77号	6,000	4,900	6,500	6,500	7,400
	78号	5,500	5,200	6,600	5,700	6,500
	79号	7,100	7,300	7,400	8,100	5,800
	80号	7,900	5,500	6,100	7,500	8,200
値	平均値	7,000	6,200	7,200	7,200	7,100
増加率(%)		0	-11.4	+2.9	+2.9	0
被検	81号	6,100	3,800	5,700	14,700	6,100
	82号	7,200	6,100	5,500	17,000	10,000
	83号	6,000	5,800	6,000	16,400	8,600
	84号	5,400	4,100	3,800	11,200	5,800
	85号	5,300	4,200	4,700	15,700	7,000
	値	平均値	6,000	4,800	4,700	15,000
増加率(%)		0	-20.0	-21.7	+150.0	+23.0
変動率(%)		0	-6.6	-24.6	+147.1	+25.0

増加率(%) = $\frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$

変動率(%) = $\frac{\text{平均被検値の変動に対する百分率} - \text{平均対照値の変動に対する百分率}}$

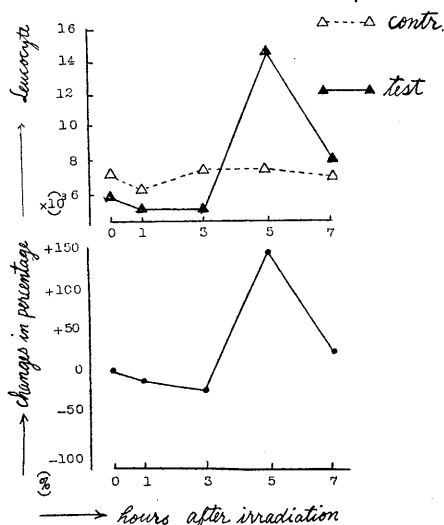


Fig. 8.

Effects of alcohol on the irradiated response (300 r) in leucocyte.

を前処置した場合の実験結果は第8表の如くである。この場合の白血球反応型は Ph 前処置時のそれと近似し、3時間目までは確実な減少値を、次いで5時間目に増加率約150%に達する著明な初期白血球増加が認められた。すなわち正常な先行性白血球減少相が Ph 前処置時と同様に強調され、3時間目の正常な初期白血球増加反応が5時間目に至って始めて発現したものと理解できる(第8図)。既述のように Ph 前処

第9表

対照	時間 家系番号	0	1	3	5	7
		86号	6,300	12,100	14,100	12,800
	87号	7,500	13,400	12,200	11,000	8,200
	88号	7,100	15,600	11,200	10,900	7,500
	89号	5,200	15,400	10,900	9,300	8,000
	90号	6,000	9,700	9,200	8,700	7,200
値	平均値	6,400	12,800	11,500	10,100	8,200
	増加率(%)	0	+100.0	+79.7	+57.8	+28.1
被検	91号	7,200	5,200	18,000	10,300	6,200
	92号	8,400	7,800	27,200	12,400	8,100
	93号	6,500	5,600	25,100	9,800	6,200
	94号	9,100	7,900	28,300	14,400	9,300
	95号	8,800	7,500	27,900	12,100	6,700
	値	平均値	8,000	6,800	25,300	11,800
	増加率(%)	0	-15.0	+216.3	+47.5	-6.2
	変動率(%)	0	-115.0	+136.6	-10.3	-34.3

増加率(%) = $\frac{\text{時間平均値} - \text{前値平均値}}{\text{前値平均値}} \times 100$
 変動率(%) = $\frac{\text{平均被検値の変動に対する百分率} - \text{平均対照値の変動に対する百分率}}$

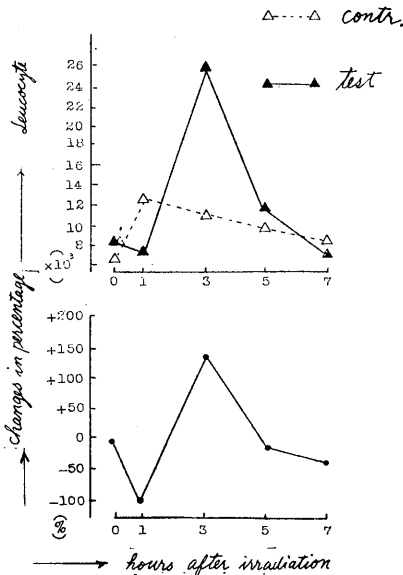


Fig. 9.

Effects of mercaptoacetic acid on the irradiated response (300 r) in leucocyte.

置時の初期白血球増加は7時間目に認められ、しかもその増加率は約86%であるから、著者の実験条件下で両者を比較すると AI による初期白血球増加の抑制効果は Ph に劣るように思われる。

I) Mercaptoacetic acid 前処置時におけるレ線白血球反応 (第9表, 第9図)

SH 化合物である Mercaptoacetic acid (以下 MAA と略す) を前処置すると初期白血球増加反応は顕著に増加する(第9表)。この場合の増加率は約216%でレ線照射のみによる初期白血球増加率75%と比較すると驚異的な増加である。もっとも MAA のみによっても約80%の増加が3時間目にみられるが、それにしても著しい増加といえよう。

J) レ線白血球反応の総括的観察 (第10図)

以上の諸実験結果をここで総括的に検討してみよう。一応化学物質投与という負荷条件そのものによる白血球反応を考慮に入れず、これらの条件下でレ線照射をすると白血球がどのように変化するかを概観してみる。

まず正常な初期白血球増加を即時反応として速かにこれを発現せしめるものは B, I, Ad および Pil であった。この三者はそれぞれ約86%, 89%および64%の増加を1時間目に発現せしめた。また時間的にはレ線照射のみの場合と同様3時間目において初期白血球増加を一層増強せしめるものに At と MAA があり、おのおの約120% および216%の増加をみせた。なおレ線照射のみの場合の初期白血球増加反応の増加率は75%である。

このような結果は初期白血球増加の即時誘発やその強調に関して自律神経機能がどのように関与しているのか、容易に推測を許さない。しかしこの初期白血球増加反応に対する抑制には Ph および AI による麻酔条件がこれに関与していることを窺わしめた。

そこで以上の諸実験において各化学物質そのものの白血球に与える影響を考慮し、諸条件負荷時におけるレ線反応の実質的な増減を検討することにした。すなわち各化学物質そのものに

よる白血球の消長を百分率で表わし、また条件負荷の上レ線照射をおこなった場合のこれらの変動をも百分率として、両者の差を求めた結果は第10図の如くであった。

この図は各化学物質による白血球反応がレ線照射によって如何に変動するかという問題の解答を意味することにもなるわけであるが、とにかく実質的にレ線白血球反応を増強せしめる化

学物質としては Ad, Pil, At および MAA があり、逆にこれを抑制せしめる化学物質としては Ph, B. I および Al があると指摘し得るのである。

K) 各化学物質の血液酸素消費に及ぼす影響 (第10表, 第11図)

各化学物質は動物に注射された量の 1/2 量として、健常家兎のクエン酸加血液 2.0 cc に加え、その酸素消費状態の変化を 5 時間にわたって求めた。但し、MAA のみはその消費量が異常に高いため、とくに 1/4 量とした。その結果は第11図の如く、血液酸素消費を促進するものは MAA, Pil, At および Ad であり、消費抑制を来さしめるものは B. I, Al および Ph であった。なおこれらの結果は自律神経毒の血液酸素消費に及ぼす影響をガマの血液で検索した久保川⁵⁾の実験結果と全く一致している。

ここで第11図を第10図に示した白血球反応の変化と比較してみると、白血球の増加が招来されるものは、全て酸素消費促進物質であり、また白血球の減少を示すものは全て酸素消費抑制

第10表

(対 照)					
時間 家兎番号	1	2	3	4	5
96号	58	88	107	118	134
97号	57	86	104	117	134
98号	59	88	107	117	133
平均値	58	87	106	117	134
(Pilocarpin)					
96号	94	131	144	157	174
97号	90	131	140	157	170
98号	92	129	141	158	175
平均値	92	130	142	157	173
(Adrenalin)					
96号	67	110	130	139	151
97号	69	112	129	138	151
98号	68	114	131	139	150
平均値	68	112	130	139	151
(Alcohol)					
96号	47	57	62	63	66
97号	49	59	60	64	64
98号	52	58	61	62	65
平均値	49	58	61	63	65

(Mercaptaetic acid)

時間 家兎番号	1	2	3	4	5
96号	135	203			
97号	134	197			
98号	134	200			
平均値	134	200			

(Atropin)

96号	79	112	131	149	162
97号	76	110	130	147	161
98号	79	114	130	148	160
平均値	78	112	130	148	161

(Benzylimidazolin)

96号	49	68	70	75	84
97号	46	67	73	78	85
98号	50	69	74	78	86
平均値	48	68	72	77	85

(Phenobarbital)

96号	9	21	36	53	57
97号	8	20	35	52	55
98号	9	20	35	51	56
平均値	9	20	35	52	56

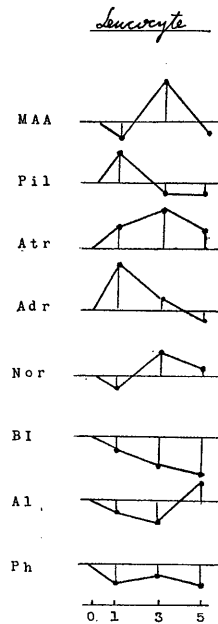


Fig. 10.

Influences of various chemical substances to the irradiated response (300 r) in leucocyte.

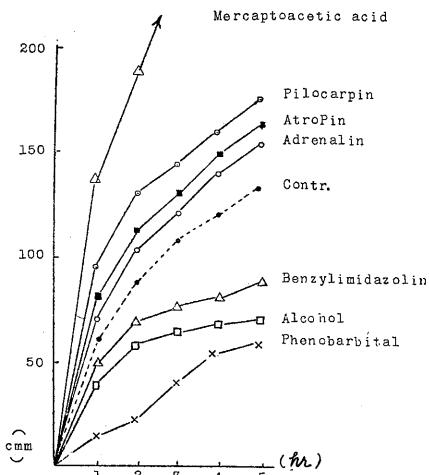


Fig. 11.

Influences of various chemical substances to the oxygen consumption in blood.

物質であることが判る。もちろんこの血液で見られる酸素消費反応の態度は、他の一般組織細胞についても略同様であろうと想像されるのである。したがって γ 線白血球反応は血液および生体組織細胞の機能が賦活される条件下で促進し、逆の条件下では抑制されるということができよう。

また著者が使用した化学物質は、脳中枢および自律神経系に対する薬理学的作用よりも、それらが血液や組織細胞に対する酵素学的作用において、より密接に γ 線白血球反応と関係していると解した方が合理的であろう。

IV. 考 察

γ 線による初期白血球増加反応が神経性に調節されるという論拠は、腹腔神経節剔除、内臓神経副腎枝および腹部迷走神経切除などの負荷条件下ではこれが発現しないという点にある。しかしこのような外科的 Stress を負荷した動物での実験結果の判断は相当慎重でなければならぬと思われる。 γ 線照射も亦広義の Stress と考え得るであろうから、神経切断の Stress 状態が完全に復元しない状態では、この γ 線白血球反応は極度に抑制されるものと解される。池田⁶⁾は神経切断術後4ないし5日を経

過してから γ 線白血球反応を調査しているが、この時期の動物がいわゆる Stress 状態から開放されていたかどうかは、大いに問題となるところである。森下⁷⁾によると家兎に負荷された外科的侵襲たとえば下垂体摘出、副腎剔除、脾臓摘出、骨髄血管結紮、瀉血などは一般に10日ないし2週間経過しなければ外科的侵襲の影響から完全に復元しないからである。

また神経切断についての池田⁶⁾の実験成績を検討すると、 γ 線白血球増加反応は“腹腔神経節剔除”“腹腔神経節剔除+内臓神経副腎枝切断”“腹腔神経節剔除+内臓神経副腎枝切断+腹部迷走神経切断”の順序で弱められており、この現象から同氏は腹腔神経節、内臓神経副腎枝および腹部迷走神経の三者いずれもそれぞれ γ 線白血球反応に関与しているという見解を導き出している。しかしながらこの場合 Stress の荷重が順次強まっていることを見逃すことは許されないし、或は神経切断による神経機能脱落という問題よりも Stress の負荷増大という立場から説明される現象なのかも知れないのである。

γ 線照射によって自律神経機能に甚大な影響が与えられることは経験的に知られている。しかしどんな変化がもたらされるか明確ではない。たとえば貝山⁸⁾は γ 線照射によって肝の Cholinesterase が活性化するといひ、若林⁹⁾、藤田¹⁰⁾も同様な報告をしているところから判断すると、 γ 線照射時には Acetylcholine 作用が減弱して交感神経系の比較的優越が発現するものように思われる。それに対して原¹¹⁾は γ 線照射後 Monoamino oxidase の活性値が上昇して体内における Adrenaline の分解が促進されるといひ、この見解によると生体は副交感神経緊張が導かれるかの如く理解される。おそらくいずれも正しいであろう。なぜならばそれは照射線量の大小や動物の種属差、或は個体差などによっても当然いずれかが強調されて発現するというところもあろうし、またこの相反する2つの機序が同時に生体内で進行することも否定し得ないからである。

著者の実験成績を概観してみると、 γ 線照射後比較的早期に発現する白血球反応には明瞭な自律神経系との関係が認められない。

たとえば γ 線照射後3時間目にみられる γ 線初期白血球増加は、2、3の自律神経毒の前処置によって1時間目の反応として発現することを認めた。しかもそれらの反応は全く酷似した反応型を示すのであるが、これらの薬物はB. I, Ad および Pil であった。すなわち交感神経機能遮断でも、交感神経もしくは副交感神経刺激の条件下でも全く同様に認められるのである。但し麻酔剤である Ph および Al によってこの γ 線白血球反応は確実に遅延することをみとめた。

ここで若干観点を換え、各条件負荷時における γ 線照射反応の実質的な変化を第10図で検討してみよう。

γ 線白血球増加反応について、その増加を招くものと、減少するものとに分けてみると、前者に属するものは Ad, Pil, At および MAA であり、また後者に属するものは Ph, B. I および Al であった。そして甚だ興味あることに、この白血球反応を増強せしめる化学物質は、いずれも血液酸素消費促進物質であり、また白血球減少を導く化学物質は全て血液酸素消費抑制物質であった。血液の酸素消費は一般の組織呼吸に押し括めて考えることができるから、 γ 線による初期白血球増加反応は血液を含めて生体の組織呼吸が昂進しているか抑制されているかという生理的な状態によって大いに影響されるものといわねばならない。そしてこの事柄は γ 線白血球反応の発現に対する自律神経の機能的関与が甚だ不明瞭であるだけに、自律神経支配よりはむしろ優越する条件であると考えられる。

早くから、 γ 線の radiobiological reaction の発現には酸素の存在が極めて緊要であると信じられてきたし、いまなおそうである。

たとえば Weiss ら¹²⁾の free radical theory や 或は若林一門¹³⁾の考えなど、radiobiological reaction にたいする見解はそれぞれ異っている

が、いずれも酸素の存在でその作用が増強し、酸素欠乏状態ではそれが阻害されることを指摘している。

したがって血液や組織細胞の酸素消費が増強し酸素分圧の昂る状態では当然 γ 線の生物学的作用は増強されるであろうし、この状態と白血球増加現象との間には何か本質的な関連があるように思われる。このように血液を含めた組織細胞の酸素消費の増減によって γ 線白血球反応もまた増減することは、これがごく末梢性の機序を介しても発現しうるという可能性を意味している。

麻酔および自律神経毒の γ 線白血球反応に対する一見不統一な成績は、この血液酸素消費に及ぼす影響の観点から一通り理解できるように思われる。そこで次に SH 化合物 MAA について述べよう。

γ 線照射によって生じた一時的な free radical は SH 基と作用し、その酵素活性を抑制するためにいわゆる radiobiological reaction が発現するといわれ、この立場から Patt¹⁴⁾らは SH 物質の前処置によってそれに対する防禦効果がみられると報告した。筧¹⁵⁾も SH 化合物である β -Mercaptoethylamine をマウスに前処置することによって γ 線障害が防禦されることをみている。著者の実験成績でも MAA が初期白血球増加を増強せしめる上に特異性を発揮したことは興味深い。

またこの初期白血球増加を Al は遅延せしめたが、それは酸素消費抑制物質であること以外に、たとえば γ -グロブリン水溶性に対する γ 線照射効果が水溶液の酸素を除去したり或はこれにエチルアルコールの微量を加えることにより明瞭に抑制されるという沖館¹⁶⁾の見解からも理解される。因みにその防禦効果は、アルコールは、free radical 或は活性水との反応性を有しないという点に求められている。

要するに著者の実験で用いた各種化学物質はこれが自律神経系に対して示す特異性よりもむしろ血液、組織細胞の酸素消費に及ぼす影響という点において、 γ 線初期白血球増加反応と結

びついているように思考される。

V. 総 括

本実験ではレ線照射時の初期白血球増加の発現機転を明かにするため、とくに中枢、自律神経系に關与する化学物質とレ線反応との關係を追究した。

その結果、この初期白血球増加反応を確実に増強せしめる化学物質として、Ad, Pil, At および MAA があり、逆にこれを抑制するものには Ph, B. I および Al があつた。

これらの現象中とくに初期白血球増加反応の抑制条件は、中枢及び交感神経機能の抑制をもたらすものであり、また Ad および At が反応を増強せしむる事實は、一応この初期白血球増加反応と中枢および交感神経機能の關係があるように推測される。しかし副交感神経刺激の Pil もまた初期白血球増加を早期にもたらす効果があり、自律神経機能によって此の現象を説明することは困難である。

そこでこれらの化学物質が血液酸素消費に与える影響を検索した結果、白血球増加を早期にそして増強せしめる物質、すなわち Ad, Pil, At および MAA はすべて酸素消費促進物質であり、またこの白血球反応を抑制する物質すなわち Ph, B. I および Al などはいずれも酸素消費抑制物質であることを知つた。

現在なお radiobiological reaction の本態は解明されていないが、しかし酸素の存在或は酸素分圧の上昇した状態ではこの障害作用が強調され、逆に無酸素もしくは酸素分圧の低下した状態においてはこの障害作用が減弱することが確かめられている。

このような観点からレ線初期白血球増加反応の発現の背景には組織呼吸の問題が存在すると想定され、酸素消費の促進条件下において白血球増加反応が発現することを指摘した。

VI. 結 論

著者は家兔を用い 300 r 1 回全身照射時にみられる初期白血球増加反応と自律神経系化学物

質の薬理作用との關係を明かにするため Pheno-barbital, Benzylimidazolin, Adrenalin, Pilocarpin, Atropin, Alcohol および Mercaptoacetic acid 等を用いて検討をおこなつた。

1) レ線照射後のいわゆる初期白血球増加反応は通常 3 時間目に認められたが、これを抑制もしくは遅延せしめるものは Phenobarbital および Alcohol であつた。

また初期白血球増加反応の即時発現物質は、Adrenaline, Pilocarpin および Benzylimidazolin であり、その反応増強物質は Atropin および Mercaptoacetic acid であつた。但し Benzylimidazolin 前処置の場合には、Benzylimidazolin のみによる顕著な白血球増加が 1 時間目以後強く抑制された。

2) これらの各化学物質の血液酸素消費に及ぼす影響を検索した結果初期白血球増加の発現を早め且つ増強する物質 (Adrenaline, Pilocarpin, Atropin および Mercaptoacetic acid) はすべて酸素消費促進物質であり、また初期白血球増加反応を遅延する物質 (Benzylimidazolin, Phenobarbital および Alcohol) はいずれも酸素消費抑制物質であることを知つた。

3) したがって、レ線照射による白血球反応は、脳及び自律神経に關与する物質の薬理学的作用というよりも、むしろこれらの血液もしくは組織呼吸に対する酸素消費作用と關係して発現するものと思われる。

擧筆に臨み、御指導と御校閲の勞を賜つた主任、伊藤秀三郎教授並びに、森下敬一助教授に衷心より謝意を表する次第である。

文 献

- 1) 松本 修 (1959) チフスワグチンによる白血球増多反応と副腎皮質 日本生理誌 **21**, 825
- 2) 森下敬一・野田滋行 (1959) レ線照射による初期白血球増加のしくみ 東京医誌 **76**, 613
- 3) 森下敬一・他 (1958) 血液細胞の呼吸に対する Ca-Pantothenate の作用 齒科学報 **58**, 283, **58**, 370
- 4) 野口義因・田沼 穂 (1952) メルカプト醋酸ソーダによる 2, 3 皮膚疾患の治療 臨床皮膚泌尿器科 **6**, (9号) 429
- 5) 久保川道男; 腹腔内血液とくにその糖および水分吸収の司配要因に関する生理学的研究 (日本生理

誌に投稿の予定)

- 6) 池田興生(1956)家兎にX線全身又は部分照射を行なう事によって起る白血球像の変動及びこれに対する神経性調節並びに内分泌との関係(第1, 2, 3編)東京医大誌 **14**, 77
- 7) 森下敬一(1959)外科的侵襲時における血液反応とその発見機転に対するひとつの考え 医事公論 **1671**, 16
- 8) 貝山 悟(1956)自律神経に対するレ線の作用 日医放誌 **16**, 530
- 9) 若林勝・他(1952)HodstinのX線致死過程に及ぼす影響 日医放誌 **12**, 937
- 10) 藤田藤雄(1953)HodstinのX線致死過程に及ぼす影響(第2報)日医放誌 **13**, 517
- 11) 原 一夫(1956)諸種アミンの放射線に対する化学的防禦効果に関する研究 日医放誌 **16**, 888
- 12) Weiss, J. (1944) Radiochemistry of Aqueous Solutions. Nature, **153**, 748
- 13) 若林 勝(1953)6×6判間接断層写真法の研究 日医放誌 **13**, 329
- 14) Patt, H. M. (1953) Protective Mechanismus in Ionizing Radiation Injury. Physiol. Rev. **33**, 35
- 15) 笥 弘毅(1956) β -MercaptoethylamineによるX線障害防禦に関する2, 3の実験 日医放誌 **16**, 679
- 16) 沖館純吉(1959)放射線間接作用の研究 日医放誌 **18**, 1413

筋又は神経の興奮生起に関する化学的理論について 612.816.3

Chemical physiology of excitation of nerve and muscle

三 浦 き み (MIURA-Kimi)*

When an electric current was applied to the excised skeletal muscle as well as to the desheathed nerve of frogs or toads, the excitation occurred at the cathode of the stimulating electrodes.

The fact that it was due to the release of carnitine at the cathode, at the same time of carnitine at the anode, was proved by the author as followed;

1) Carnitine hydrochloride applied from outside to the excised muscle of toads produced contractions.

2) The contraction of the muscle which was caused by the application of carnitine hydrochloride was antagonized by carnosine.

3) The carnitine and carnosine mixed solution was divided into two parts between which the same fluid contained capillary was bridged. The electric current was flowed through these two chamber for 5 sec and after the removing of the bridge, each fluid was examined to muscles or desheathed nerves. The contractions occurred by the application of the cathodic fluid.

1. 緒 論

実験的には蟻又は蛙の神経筋標本を取り、神経又は筋に電氣的刺戟を与えれば筋収縮が生ずる。神経の一部分を結紮してそれより中枢端に電流を通じたのでは収縮が起らないから神経に起る一種の変化も筋に起る一種の変化も同一のもので、然もその結果としては筋にまで伝導されると必ず筋収縮となる様な生体に於ける一種の変化を、「興奮」と名づける。

では電流刺戟によって興奮が生ずるのは如何なる機制に依るか、此の問題は今だに解き難い一種の謎で、僅かに電流はエネルギーであるから其のエネルギーが仕事をするのであると漠然と考えているに過ぎなかった。

しからばエネルギーが仕事をしたとして如何なる仕事をしたのであるか。此処十年来極めて明解な理論的見解が英国の Hodgkin 並びに其の学派に依って遂げられたと云ってよい。即ち Hodgkin (1938) はヤリイカの太い神経線維 (*Loligo forbesi*) を用いて此の内外に電極を挿入し、電位測定の方法を用いて神経が興奮を生ず

る時には突如として刺戟を与えられた部位に透過性と、Kイオンに対する外向きの透過性の変化を意味する、此の変化が起るとNaイオンは急に神経内部に侵入し次でKイオンは急に神経外部に溢出し此れが働作電流として計り得るものである。

斯の如き変化が生ずると其の働作電流は隣接部位より外向きの電流となって流れ出る。すると其の部位は外から電流を通されたと同じ反応即ち透過性の変化を生ずる、斯くの如くして隣接部位へと興奮は伝導して行くのであると説いた⁴⁾⁵⁾。

扱て、ところが其のあとはどうであるか、あともどる働きがなければならぬ。神経線維がKイオンを再び吸収し同時に又侵入して来たNaイオンを再び追い出す。もとの状態と称するのは細胞内即ち神経線維内にはKが圧倒的に濃度が高くそのようなイオン濃度差が保持されていると云うのがもとの状態であり生きた状態であるからである。其の吐き出したは吸いこむ働きに就ては Hodgkin はポンプ作用であると云う言葉を用いその働きにはエネルギーが用いであると示唆しているに過ぎない。著者は上記2つの問題、即ち電流が何故透過性の変化を起させるかと云う問題を解くこと、それが解けれ

* 日本大学歯学部生理学教室
Dept. of Physiol., Nihon Univ. School of Dentistry
(昭和35年9月26日受付)

ば Hodgkin の所謂ポンプ作用は第1の問題をも同じ方法で解く事が出来るのではないかと考え本研究を行った。

本研究のすじ道は1956年に林が発表している Excitine・Inhibitine 仮説より出発する³⁾²⁾。即ち林及び其の同門は10年に亘る塩縮の研究から筋が興奮を起すのは電流によって筋内に存在する2つの物質が分かれその物質の一方が刺戟物質として作用し他の一方は此を抑制すると云う説である。化学的抽出法に依り両物質を筋から取り出してみたところ一方は Carnitine 即ち β -hydroxy γ -aminobutyric betaine であり、他の一方は Carnosine 即ち β -alanylhistidine であると主張した。ところが最初の実験は戦後の乏しい物質材料に依って行われた為に幾つかの誤謬を来たした、と云うのは最初の報告には Carnosine の方が刺戟物質であると云っているのにかかわらず、次の報告には Carnitine と Carnosine の混合物質であると主張している、その混合と云うのは Carnosine を主体とするものが抑制であり Carnitine を主体とする混合のものが刺戟であると述べている、此の一連の研究は世界的興味を喚起し、ベルギーに於ては特別に Carnitine の合成が行われ、更に又、定量測定の方法も研究せられた。そこで著者は此らの合成物質を用い林の学説を再び検討する事から本研究に入った。従って著者の用いた物質材料は、日本、ベルギー、米の3つの国に於て合成されたものである。

II. 実験方法

実験に用いた標本は冷血動物、蟻の骨格筋を通常の方法に従い剔出したがその際用いた骨格筋は凡て左右の縫工筋のみを使用した。先づ一定量のシャーレー内に冷血用 Ringer 液を予め用意し、上記左右の縫工筋を剔出したならば此の Ringer 液中に浸漬 15-20 分間放置した上で以下述べる各々の実験に供した。

1) 興奮物質の検定

上記の如くして放置した剔出縫工筋標本を用い、興奮物質の測定方法としては先づ小型シャ

ーレー即ち内径 50 mm のものに Ringer 液のみ 5.0 cc を各々とり、用意し此れを外液と称する。此の外液中に先きの Ringer 液に浸漬して置いた剔出縫工筋を左右各々一組のシャーレー内に一標本づつ浸漬し、本実験の開始となる。

この場合は特製の微量注射器にて 0.1 cc を 1 回量として 2 分毎に検定物質溶液 (Carnitine) を滴下し総滴下数值いくらかと云う結果を算出し、刺戟臨界濃度を判定する方法をとった。

2) 抑制物質の検定

抑制物質の検定も、やはり同様な方法即ち内径 50 mm の小型シャーレーに等圧 NaCl 溶液を 5.0 cc 各々用意し上記同様剔出縫工筋を一旦 Ringer 液中に浸漬放置したものを 5.0 cc 外液のシャーレー内に浸漬し、其処で塩縮の生起を確かめた上で、用意した抑制物質を 0.1 cc を 1 回量とし、5 分毎に滴下して生起している塩縮を総滴下値何滴で制止するかを検べ計算によって抑制臨界濃度を判定する方法を用いることにした。

3) 興奮、抑制物質の相互の拮抗作用の検定

上記 1) 及び 2) すなわち興奮物質と抑制物質とを合せたものを用意し剔出縫工筋を入れた Ringer 液に滴下して全く縫工筋に対しては無効である場合の興奮及び抑制両物質の量的関係を計算により各物質の作用臨界濃度として検定する方法を採用した、更に此の様な両物質を混合する事により互に拮抗的作用の無効を Ringer 氏溶液に溶解したものを 1 図に示す如き方法で

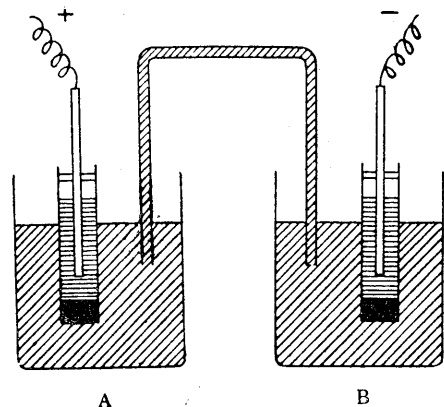


Fig. 1. Treatment of the solution current.

通電し陽性又は陰性の外液を図のブリッジをはずして分離し、其の陰極側の外液と陽極側の外液との2者について上記同様別出縫工筋に投与検定する方法で何れの極に興奮物質が現出するかを検定する方法を用いた²⁾³⁾。

4) 用いた物質は Carnitine (科研) Carnitine Hydrochlorid (ベルギー及び科研)

更に Carnosine (メルク製) Carnosine (ベルギー) Carnosine (科研) を用いた。

島田及び野田、越川等の報告によると Carnitine を主体とした濃度に少量の Carnitine を加えた場合に Carnitine 作用が高まるのではないかと云う印象を受ける、そこで構造上、Carnitine の両端構造に似た両端構造をもつ物質を共存せしめる時には臨界濃度小にて足るのではないかと考えたので、骨格筋の中にある濃度及び、それ以下の濃度で、Cysteine, Taurine, Methionine 等を加えて実験を試みた例もある、此らの物質は市販のものを用いた、最後に或る動物では Carnosine であるか別の動物では Anserine が対応物質として筋内に有る動物もあるので試みに Anserine を使用した。Anserine はアメリカの California Research corporation 製品を用いた。

Ⅲ. 実験成績

第1実験 Carnitine が骨格筋に対する興奮物質である

山田その他の研究から見て最初に再試すべきものは興奮物質としては Carnitine それに配合した少量の Carnosine, Taurine, Cysteine 等の配合実験である。第1表は其の配合組合せと結果を表示したもので此れを総括すると有効なのは *dl*-Carnitine Hydrochlorid である。中性 Carnitine の場合は Taurine Cysteine が混じってであると有効になる、そうでないと Carnitine に予め等 Mol の HCl を加えて置く事により同じ効力を示す。有効度を比較すると Carnitine Hydrochlorid (ベルギー) の場合は pH 3.4-4.2 で臨界濃度は 0.019-0.09 M である。科研 Carnitine の HCl を加えたものに就ては 0.0098-

第1表

Substances	Ringer 溶液	pH	収縮	要点
<i>dl</i> -Carnitine	0.1 M	4.8	3滴 (0.0566 M)	科研
<i>dl</i> -Carnitine	0.1 M	4.8	8滴 (0.138 M)	科研
<i>l</i> -Carnitine	0.05 M	3.8	1滴 (0.0098 M)	科研 (3例)
HCl	0.05 M			
HCl	0.05 M	3.8	2滴 (0.0192 M)	科研
<i>dl</i> -Carnitine Hydrochloride	0.05 M	4.2	2滴 (0.0192 M)	ベルギー (4例)
<i>dl</i> -Carnitine Hydrochloride	0.1 M	3.4	3滴 (0.0623 M)	ベルギー
<i>dl</i> -Carnitine Hydrochloride	0.1 M	3.4	5滴 (0.0910 M)	ベルギー
<i>dl</i> -Carnitine Taurine	0.05 M	5.0	1滴 (0.0198 M)	科研
<i>dl</i> -Carnitine Taurine	0.005 M	4.2	16滴 (0.0242 M)	科研
<i>dl</i> -Carnitine Taurine	0.01 M	4.4	11滴 (0.0198 M)	科研
<i>dl</i> -Carnitine Taurine	0.025 M	4.4	2滴 (0.0192 M)	科研 (3例)
<i>dl</i> -Carnitine Taurine	0.05 M	4.4	1滴 (0.0099 M)	科研
<i>dl</i> -Carnitine Taurine	0.025 M	4.4	2滴 (0.0192 M)	科研
<i>dl</i> -Carnitine <i>l</i> -Cysteine	0.005 M		7滴 (0.0061 M)	科研
<i>dl</i> -Carnitine <i>l</i> -Cysteine	0.005 M		6滴 (0.00535 M)	科研 (2例)
<i>dl</i> -Carnitine <i>l</i> -Cysteine	0.005 M		4滴 (0.00370 M)	科研

() の mol 濃度は Carnitine について計算したもの

0.0192 M で、後者の方ははるかに濃度は有効である。

扱て、Carnitine, Taurine では Carnitine 0.05 M、その 1/2 若しくは 1/10 で臨界濃度に達し、その数字は 0.0099-0.024 M である。これにたいして Carnitine, *l*-Cysteine 混合物は Carnitine 0.005 M で等 *l*-Cysteine を加えても臨界濃度 0.0037-0.0061 M である。0.005 M で等モル *l*-Cysteine を加えて臨界濃度 0.0037-0.0061 M である。此の決定に至るまでには数百例を重ねてあるが其れは条件の確立が不明であったからで第1表のごとき条件を決定したからには確実に生起する現象であった。あとで決定する通り Carnosine との関係が Taurine に於て共通するものがあるので第1表では実際は Cysteine の方が臨界濃度が低いけれども問題を共存物質のある場合には Taurine 共在を中心として論ずる。

即ちかなり酸性の場合に Carnitine は一層強力であるのがわかったので Carnitine Hydrochlorid 単独又は Taurine と協同で与えた成績では Taurine の存在を重要視する必要がない。言い換えれば Carnitine 単独で充分な骨格筋刺激作用を持つと結論する事が出来る。此の場合に Carnitine Hydrochlorid であれば用いるに先だって NaOH, 又は NH_3 等の少量を混ぜて pH を中性に近づけたものでも尙効力が有ると云う現象に気づいた。更に Carnitine Hydrochlorid に少量の Carnitine を配合した試みも行っているが、此の場合には Carnosine の配合は全く意味がなかった。此れらの観察から見ると島田⁹⁾, 越川⁶⁾ 等の実験は其の用いた Carnitine が Carnitine Hydrochlorid でなかったものと推定される。

第2実験 Carnosine 及び Anserine が抑制物質である

扱て興奮物質が Carnitine であると云う決定が出来た以上は抑制物質は恐らく Carnosine であると推定される。そこで自分は等圧食塩水中に剔出骨格筋を入れ、塩縮の起るのを確認してから Carnosine 滴下の方法で塩縮抑制までの滴数を求めた。第2表の成績がそれでベルギー Labaz 研究所の Carnosine では 0.01 M, 5-10 滴下で抑制している。この濃度を計算すると Carnosine の塩縮抑制臨界濃度は 0.00910-0.0167 M である。これに反して日本の科研化学の製品では 0.1 M, Carnosine に Taurine を少量加えたものがもっと有効で、その臨界抑制濃度は 0.138-0.219 M であってベルギー製品と比較すると殆ど 1/10 の効力しかない。いづれにしても真の濃度決定は後節にゆづるものとして Carnosine が塩縮抑制作用があることはたしかである。しかし Carnosine 単独でもある程度の抑制作用があり検定によりそれを定めるためには長い時間を要すると云う印象を受ける。言い換えれば Carnitine 検定法と同様のつもりで Carnosine 作用の検定を行うと、はじめは結果が明らかでないが、やがては Carnosine が抑制するのにかかわらずまだ抑制するに至らない時

第2表

Substances	NaCl 溶液	pH	塩縮抑制	要 点
Carnosine	0.01 M		9滴 (0.0153 M)	ベルギー
Carnosine	0.01 M		10滴 (0.0167 M)	ベルギー (2例)
Carnosine	0.01 M		7滴 (0.0128 M)	ベルギー
Carnosine	0.01 M		5滴 (0.00910 M)	ベルギー (2例)
Carnosine Taurine	0.1 M 0.05 M	7.0	8滴 (0.138 M)	科 研 (2例)
Carnosine Taurine	0.1 M 0.05 M	7.0	9滴 (0.138 M)	科 研
Carnosine Taurine	0.1 M 0.05 M	7.0	14滴 (0.219 M)	科 研

() の mol 濃度は Carnosine について計算したものの検定液は等圧 NaCl に溶解したものを使用 室温 18°C

第3表

Substances	Ringer 溶液	pH	収縮抑制	要 点
Carnitine	0.01 M	5.8	8.5滴 (0.0144 M)	ベルギー
Anserine	0.01 M		(0.0144 M)	アメリカ
Carnitine	0.01 M		(0.0231 M)	ベルギー
Anserine	0.01 M	5.8	15滴 (0.0231 M)	アメリカ (2例)

() の mol 濃度は Anserine について計算したものの室温 18-20°C

間に判定を下すことになる。故に検定方法は Carnitine を 1 滴ずつ滴下してから 10-15 分をまって其の結果がわかって来てから Carnosine 単独でも容易に塩縮を止めるのがわかった。

Anserine は塩縮の初期には極めて強い抑制作用が有ると思われていたが Anserine 銅塩から銅をはづして試みた実験であることと、実験数が少なかった事に間違いがあったであろう。自分の検定によれば Anserine は藁の骨格筋にたいしても充分に抑制作用をもつと云うのは Carnitine と等 mol に混ぜて置くと Carnitine の収縮は起らないことから判る。第3表にこれを示す。

即ち Carnitine は此処で 0.0144 M であるから 0.0098-0.01922 M の臨界濃度を有する。

(第1表) からまず興奮をおこすことであるがそれに拮抗して等 M で抑制している。即ち Anserine は Carnosine 0.0091 とほぼ同じ抑制効力を有する。特に最近に至ってネズミ又は兎の如きは、Carnosine も Anserine も共に効有し然も Anserine 量の方が多いと云う報告が存するから生理学的の自分の結果は全く正しいも

のと信ずる。

小括 興奮物質並びに抑制物質の臨界濃度の算出

上記の実験成績から Carnitine の興奮物質としての臨界濃度を算出してみる。即ち1個の縫工筋が総量 5.0 cc の溶液に入っているのであるから、此れに滴下した量が加わって算出総量となる。そこで滴下した量の中に含まれる Carnitine の量がわからなければ 100 分率をもっていかなる濃度の Carnitine 溶液が1個の縫工筋の興奮を生ぜしめたかが算出出来る。

第1表及び第2表の各例に於て此れを算出したものを総括表示すれば第4表が出来る。

そこで Carnitine 興奮物質としての臨界濃度を算出すると凡そ 0.0157-0.2221% となる。従来の文献によれば哺乳動物骨格筋の正常成分で凡そ量は 0.028% に及ぶという¹⁾。

蛙も亦仮にこの濃度を処有するものとする。自分の実験では dl-Carnitine が 0.0159% まで外から与えて有効である事は存在量よりも薄い濃度で有効であったと判定してよい。

只1つ考察すべき点があるとすれば、それは自分の用いた Carnitine は dl-Carnitine であった。本来生体内に存在するアミノ酸誘導体は極く少数を除いて l 体である筈であるから dl 体であると言う点での考慮が必要である。例えば dl-GABOB と l-GABOB の dl と l では 1:3 であるがごとく²⁾ l 体の方が同じ作用でも強い筈であるから dl-Carnitine が 0.0159% まで臨界濃度に達する場合は l-Carnitine は更に少量で臨界濃度に達するであろう。このことから考えると算出臨界濃度は存在量よりも、はるかに小であると云える。同じ様に計算してみると

第4表

興奮物質	溶媒	臨界濃度	%	換算
Carnitine	Ringer (+)	0.0098-0.138 M	0.0157-0.2221%	
Carnitine Taurine	Ringer (+)	0.009-0.0242 M	0.1449-0.3876%	
Carnitine Cysteine	Ringer (+)	0.0037-0.0242 M	0.0196-0.0982%	
抑制物質	溶媒	臨界濃度	%	換算
Carnosine	NaCl (-)	0.0091-0.0167 M	0.2009-0.3778%	
Anserine	NaCl (-)	~0.0231 M	~0.7006%	

Carnosine の抑制物質の臨界濃度は 0.2% であるこれも従来の報告に依ると¹⁾ 温血動物 (人, 馬, 牛, 兎, 等) の骨格筋は Carnosine 0.415% 近くを含んでいると云い、蛙ともほぼ此れに近い値があげられている、とするとはるかに小である事がわかる。凡そ生体内に見出される物質でその存在量よりはるかに少量で有効な物質が有るとすれば、その物質は生理学的の働きを持つ物質であると言ってよい、それに反して生体内に見出されはするがその存在量よりはるかに濃度を高く与えて初めて有効な物質は生理学的作用を持つと云う事は云えない、只薬理学的作用を有すると云うに過ぎない。この意味では骨格筋の収縮に対して、Carnitine も又 Carnosine も生理学的作用を持つ、即ち真の収縮のさいに、いづれも働いている物質であると云わなければならない。

第3実験 興奮物質及び抑制物質の検定実験

第1, 第2両実験によって外から与えられる場合に Carnitine が興奮物質であり Carnosine が抑制物質であると言う事が確定した。此の両者が同時に存在する時は無効である事もわかった。すでに初期の実験でこの両者の同時存在は電流に依って一方から特定の極に現われると云う事は大内, 越川, 島田, 野田, 等の報告によってくわしく論じられている。そこで自分も又両者共合成物質を用いて同じ実験を試みた。通電の装置, 方法等は第2章でくわしく述べてあるが、其の結果は次の如くであった。

Carnitine, Taurine 混合溶液で筋収縮のあるところに Carnosine, Taurine 混合溶液を滴下し筋に対し無効である事を示したあと (Ringer 溶液を溶媒としてある) この無効なものを2つのビーカーに分けこの間に第1図の如きブリッヂを架しそれに通電をするのであるが其の電流強度は電源 4 V 白金電極で 10-15 秒間通電と定めた、其の結果、両極共に溶液をわけて取り形の如くその各々の中に剔出骨格筋を入れ収縮が起るか否か、起

た場合には潜刺激時はどの位かを検定した。その結果は第5表の如きである。即ち陽極に於て筋収縮を強く生じ陰極に於ては筋収縮は僅かに起る。此の実験結果に対する理論的考察は第4章で論ずる。兎も角両物質は電流によって一時的分離すると云うことは間違いない。

第4実験 単一筋線維内注入実験

上記諸実験は骨格筋そのものに外から作用せしめた場合の物質の働きである。然も筋線維に到達するには Perimyosium をへだて横たわる筋線維に作用せしめたのである。従って厳格な理論的根拠とする為には Perimyosium を剥いで単一筋線維となした上、同じ実験をするのが好ましい。幸に教室の山田は半腱筋の半分を操作して単一筋線維をつくれれば長く残生状態におく事が出来ると云う事を提唱している¹⁰⁾。そこで自分は上記山田の方法に準じて単一筋線維標本をつくり、これを特殊 Ringer に浸漬残生せしめ、此れによって次の実験を試みることにした。

(下記処方によるもの、NaCl-0.67g, KCl-0.02g, CaCl₂-0.02g, Gum Acacia-0.1g, NaHCO₃-0.02g, Glucose-0.02g, H₂O-100)

更に単一筋線維内に注入する際に於ける注入溶液は凡て等圧 KCl 溶液として用いることにした。試みた実験は次の3種類の実験を行なったが、或る場合は単一筋線維の外部より作用せしめた上で観察し、或る場合は筋線維内に注入した上で観察する二方法を用い実験を試みる事にした。

A) 単一筋線維に対する Carnitine の実験

先ず自分は各種濃度の Carnitine 溶液について単一筋線維の外より微量を投与する方法を試みたが、その結果は第6表に示す。此の実験では Carnitina 0.001(+)-0.0001(-) で、0.001%

第5表

No.	Carnitine + Carnosine Taurine + Taurine	収縮	通電	電位 時間	陽極	陰極
1	0.04 M + 0.004 M 0.04 M + 0.002 M	(-)	4 V	15 sec	(+)	(+)
2	0.04 M + 0.11 M 0.04 M + 0.055 M	(-)	4 V	10 sec	(+)	(+)
3	0.03 M + 0.11 M 0.03 M + 0.055 M	(-)	4 V	10 sec	(+)	(+)

第6表

dl-Carnitine Ringer 溶液 0.001% (ベルギー)

例	投与直 後収縮	5秒後 収縮	10秒後 収縮	30秒後 収縮
1	(+)	(+)	(+)	(-)
2	(+)	(+)	(+)	(-)
3	(+)	(+)	(+)	(-)
4	(+)	(+)	(+)	(-)

dl-Carnitine Ringer 溶液 0.01% (ベルギー)

例	投与直 後収縮	5秒後 収縮	10秒後 収縮	30秒後 収縮
1	(-)	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)	(-)
3	(-)	(-)	(-)	(-)
4	(-)	(-)	(-)	(-)

半腱筋単一筋線維。長さ凡そ5.0 mm 滴下部は中央部
収縮は (+) 収縮認めざる際は (-)

第7表 単一筋線維内注入実験

dl-Carnitine 0.01% (ベルギー)

例	注入直 後収縮	5秒後 収縮	10秒後 収縮	30秒後 収縮
1	(-)	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)	(-)
3	(-)	(-)	(-)	(-)
4	(-)	(-)	(-)	(-)

dl-Carnitine 0.01% (科研)

例	注入直 後収縮	5秒後 収縮	10秒後 収縮	30秒後 収縮
1	(-)	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)	(-)
3	(-)	(-)	(-)	(-)
4	(-)	(-)	(-)	(-)

dl-Carnitine 0.001% (ベルギー)

例	注入直 後収縮	5秒後 収縮	10秒後 収縮	30秒後 収縮
1	(-)	(-)	(+)	(+)
2	(-)	(-)	(+)	(+)
3	(-)	(-)	(+)	(+)
4	(-)	(-)	(+)	(+)

各種 Carnitine は等圧 KCl (0.88%) 溶液使用半腱筋単一筋線維 長さ凡そ 5.0 mm 刺入部位端より 2.5 mm 収縮は (+) みとめざる際は (-)

第8表

Substancs	%	注入 直後	5秒 後	10秒 後	30秒 後
科研 Carnitine	0.005	(-)	(-)	(-)	(-)
科研 Carnosine	0.0005	(-)	(-)	(-)	(-)
科研 l-Carnitine	0.005	(-)	(-)	(-)	(-)
科研 Carnosine	0.0005	(-)	(-)	(-)	(-)
ベルギー Carnitine	0.005	(-)	(-)	(-)	(-)
ベルギー Carnosine	0.0005	(-)	(-)	(-)	(-)
ベルギー dl-Carnitine	0.005	(-)	(-)	(-)	(-)
科研 Carnosine	0.0005	(-)	(-)	(-)	(-)
ベルギー dl-Carnitine	0.005	(-)	(-)	(-)	(-)
l-Carnosine	0.0005	(-)	(-)	(-)	(-)

第9表

Substances	注入直後	5秒後	10秒後	30秒後
Ringer	(+) (-)	(-)	(-)	不変
等圧 NaCl	(+)	(-)	(-)	不変
等圧 KCl	(-)	(-)	(-)	不変
蒸溜水	(-)	(-)	(-)	結筋
Alkohol (局法)	(-)	(-)	(-)	黄色
Acetylcholine 10 ⁻⁵ %	(-)	(-)	(-)	不変

が強刺戟作用を有し、此よりの高濃度又は低濃度でも無効である事をたしかめた。そこで次に単一筋線維を用い顕微鏡下に於てこの濃度に近い、Carnitine 等圧 KCl 溶液を出来るだけ小さい1滴として注入する方法を試みた。第7及び8表にその成績を表示した。

B) 単一筋線維に対する Carnosine および Anserine の実験

同様に Carnosine 並びに Anserine を線維内に注入した実験でも全く無効である事がわかった。換言すればこのものは単一筋線維に対して興奮作用を持っていない。

C) 単一筋線維に対する Carnitine と Carnosine 混合物質の実験

同様臨界濃度に加えるに等 mol に近い濃度の Carnosine を加えた溶液を用い、筋線維の外部より作用せしめた場合の実験並びに此の両者を等圧 KCl 溶液として単一筋線維内に注入した場合の両者について検討する事にした、此の程度の Carnosine は明らかに Carnitine の収縮作用を妨げている、換言すれば Carnosine は Carnitine の作用に対して抑制作用を持っていると云わなければならない。

では単一筋線維に対するその他の物質作用はどうか、第9表に示す様に種々な物質を同じ方法で注入し作用の有るか否かをみたが表示のごとく、1) 何等の作用がないか又は 2) 結節をつくるか、3) 線維溶解をせしめると云う3つの結果を示すことが判った。

IV. 総括的考察並びに結論

Carnitine 及び Carnosine が骨格筋中に存在する事は長い前からわかっていた。しかし生理的

作用の閾について1950年頃になるまで誰1人これを指摘する者はいなかった、その頃林は塩縮の研究を初め、この両者がある結合状態であれば無効体である、一たん別れるといづれかが収縮を起すと云う考えを提出した。其の実験は初は抽出 Carnitine Carnosine を用いており、やがて Carnitine 合成に成功してそれを用い、さらに Carnosine 合成物質を用いる様に巡還をしたので初めは、Carnosine の方が収縮物質であるといい、やがて両者の混合が必要であると述べついに今日に至っている、自分は両物質共に合成物質を用いて同じ実験を繰返し遂に次の様な条項を確定する事が出来た。

- 1) Carnitine が収縮催起物質である。
- 2) Carnosine が Carnitine 収縮を抑制する働きをもつ。
- 3) この両者はある濃度関係で無効になる。
- 4) 両者共に存在する無効物質に電流を通じる時は (+) 極に於て収縮が存する、ただし生体内にあっては筋線維内に両物質が存在し、外液には存在しないところに筋線維膜をへだてて電流を流すのであるから内部では電流の (-) 極が実は (+) となっているのであるから刺戟電流の (-) 極で収縮が起る事になる。
- 5) 単一筋線維の線維内注入では Carnitine の濃度は 0.001% 即ち 0.0161 M で自然の存在量より、はるかに低濃度で働く。以上の条項は凡そ筋線維がいかんして収縮を起すか電流はいかなる働きをもつかおよそ筋の興奮とは如何なるものであるか等の根本的諸問題に明快な解答を与える事が出来る、即ち筋線維が電流を受けとることによりその (-) 極に於て筋線維内で Carnitine が遊離し、これが筋線維膜に働いて外部の Na イオンを急そくに進入せしめよって動作電圧が生じ筋線維内には興奮の伝導が起る、その動作電圧が収縮の原因になる、又は遊離 Carnitine が筋蛋白の収縮に関与するか、それは未決であるが電氣的刺戟によって筋収縮が起ると云う事実については此等化学的立場から解明し得たと云えるであろう。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師慶応義塾大学医学部教授兼日本大学歯学部教授林麟博士に深甚なる謝意を表わすと共に恩師日本大学歯学部教授栖原六郎教授の絶えざる御指導御鞭撻に対し衷心より感謝の意を表わし常に御激励をいただきました歯学部長鈴木勝教授に厚く感謝致します。

尚本教室の高下弘夫博士並びに旧現教室員各位の御指導御協力を心から厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Guggenheim (1951) Dir biogenan Amins 251 (Basel Verbog Von S. Kager) New york
- 2) Hayashi, T. (1956) Chemical physiology of Excitation in muscle and nerve. (Nakayama shoten Tokyo)
- 3) 林 麟 (1955) 生命の現象の化学 神経興奮の化学 (朝倉書店 489-526)
- 4) Hodgkin, A. L. (1938) The subthreshold Potential in a Crustacean Nephthreshold Fiber. Proc. Roy. Soc. B **126**, 89
- 5) Hodgkin, A. L. (1952) The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. Biol. Reus. **26**, 339-409
- 6) 越川君子; 塩蓄に対する R 及び X 物質の研究 (日本生理誌に掲載の予定)
- 7) 野田泰邦; 塩縮に対する R 及び X 物質の研究 (日本生理誌に掲載の予定)
- 8) 大口雅人 (1960) 高等動物中枢神経の陰性化学的伝達物質としての *l*- β -hydroxy γ -amino butyric acid (*l*-GABOB) について 日本生理誌 **22**, 899
- 9) 島田昌夫; 合成 Carnosine と合成 Carnitine の筋収縮催起性に就いて (日本生理誌に掲載の予定)
- 10) 山田満雄; 骨格筋線維の興奮伝導に対する Ach の影響について (日本生理誌に掲載の予定)

体液酸塩基平衡調節作用に関する比較生理学的研究

(第1報) 酸注入時の蛙の体液酸塩基平衡調節作用 612.019.76:612.127.3:612.461

Studies on comparative physiology of acid-base balance in body fluid
(Part I) Regulation of acid-base balance in body fluid after acid load in frog

箭 田 正 輝 (YATA-Masateru)*

Infusion of isotonic hydrochloric acid solution (0.3-12.0 mM/kg) was made into *Rana catesbeiana* as well as into dogs, and physiological regulation of acid-base balance in body fluid were examined. From comparison of results with these two sorts of animals, following conclusions were obtained.

1) Decrease of blood pH and alkali reserve in serum after acid infusion is larger in frog than in dog. Underdevelopment of respiratory function and poor contribution of intracellular buffer in frog are responsible to these differences.

2) Limits of survival of frog pH change of blood is over 1 and that for decrease of reserve alkali is over 17 mM. There are larger than those with dog respectively.

3) Excess of acid radical introduced in the body is excreted as ammonium bicarbonate in frog, while it is as ammonium chloride in dog. Moreover, rate of ammonium bicarbonate excretion is very slow with frog living in cool water.

4) Thus it is concluded that frog is more resistant for change of pH and reserve alkali in blood than dog, while dog is superior in neutralizing acid with intracellular buffer and excreting it through lung and kidney.

5) Resistance to acid infusion being compared as a whole with limit of acid load which may lead to death, it has been demonstrated that dog is superior to frog, which may die even with a load of 2 mM/kg HCl.

I. 緒 言

体液酸塩基平衡調節機構を比較生理学的に研究する事は、極めて重要な問題であって、その機構の本能や意義の解明は生理学に大きい貢献を齎らすことは、Baldwin¹⁾の指摘した所である。然るにこの方面の研究は未だ殆んど行われていないと云ってよく、単に若干の魚類²⁾や鱉³⁾⁴⁾(爬虫類、鶏⁵⁾等に就いて多少の研究が為されているに過ぎない。ただ哺乳動物に就いては特に、犬に就いて多くの人が実験動物として使用する関係上、多数の研究が行なわれているが、併し此等は比較生理学的見地より行ったものではなく、従って、犬の他は兔⁶⁾や鼠⁷⁾⁸⁾に就いて若干の研究があるに過ぎない。著者はこの点に鑑みて文献に未だ記載のない両棲類(蛙)

に就いて、その酸塩基平衡調節作用の機構を明らかにしたいと考えた。

即ち両棲類は発生学的には、陸棲動物と水棲動物の中間に位置し、その体液酸塩基平衡調節に就いても、特異な態度を示す事が期待されるからである。この事は既に前報⁹⁾に於いて著者等が本研究の予備実験として行った、正常蛙の尿分析の成績に於いても、既に認められた事であって、蛙尿のNH₃は犬等の温血動物と異なり、NH₄Clの型ではなくNH₄HCO₃の型で出されているのである。その意義は温血動物の場合と多少異なる事が予想せられる。

さて温血動物に於ける体液酸塩基平衡調節機構に就いては、近年Pitts¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾, Berliner¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾, Darrow¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾, Elkinton²¹⁾及び、その他のアメリカ学派の研究に依って、非常に明かくなり、我が教室に於いても年来この方面の研究を系統的に続行し、既に犬に関しては、奥村²²⁾が酸負荷時の酸塩基平衡調節機構を色々

* 京都府立医科大学第1生理学教室(吉村寿人教授)
1st Dept. of Physiol., Kyoto Prefectural Univ. of Med.
〔昭和35年9月28日受付〕

の酸の負荷量に就き、又色々の時期に就き系統的に追究し、3段階調節学説を提出して学会の注目を引いた。

そこで著者はこの奥村の研究成績を対照として、これと略同じ方法を以って酸注入実験を蛙に適用し、その体液酸塩基調節機構を比較生理学的に検討しようとしたのである。

II. 実験方法

実験は食用蛙を用い、京都府木津附近にて採集せるものを一定期間飼育して、その生活条件を一定にらしめたる後、実験に使用した。それには先ず1-2日は正常尿を集めてその組成を分析し、然る後に酸注入実験を行った。酸注入に際しては、先ず静脈より採血してその血清を分離し、これに就いて測定した後に酸を一定量注入する。かくして再び採血してその酸塩基平衡の乱れを検したる後、蛙を恒温水槽中に放ち、然る後毎日その1日尿を集め、これを分析して負荷せる酸が腎臓にて如何様に処理せられるかを検討したのである。又体内に注入せる酸が細胞内外液に依って緩衝されて行く状況を明らかにするために酸注入前3日、注入直後、注入後3-4日の数回にわたり、ロダン曹達を注入して細胞外液量を測定し、これに血清水分中のHCO₃濃度を乗じて、細胞外液中の総予備アルカリ量を求め、これより細胞外液にて中和された総酸量を計算した。又酸注入実験に際し、その前中後にわたって呼吸ガス代謝を測定したのもある。そこで次に此等の実験方法の詳細に就いて各項目にわたって述べる。

実験動物；100-500gの食用蛙約200匹を使用した。蛙は網を以って捕獲し、外傷を受けていないものを用いる様に注意した。又外傷や固有疾患の為に死亡するのを除く目的で、約2週間水槽中で飼育し生存し得た蛙のみを用いた。但し産卵期の蛙は代謝が非常に異なる為その時期の蛙は使用しなかった。

蛙は恒温動物と異なり外界温度が酸塩基平衡調節作用に及ぼす影響が大であるので実験に際しては、外界温度を一定に保つ必要がある。そ

Table 1.
Comparison of composition of urine collected by various methods.

	Urine collected immediately after capture			Urine collected after 3 weeks		Urine catheterized from bladder
	With feces	Without feces	Ligated cloaca	Without feces (Control)	Ligated cloaca	
Water Temp. °C	20	20~25	20	20	20	20~25
Urine volume %	5.96±1.22	6.87±2.70	6.19±0.52	9.12±4.00	7.65±2.54	- -
pH	7.59±0.34	7.18±0.12	7.08±0.19	6.99±0.13	7.04±0.08	7.18±0.41
NH ₃ mM%	9.39±0.54	4.20±1.44	4.43±1.30	4.06±1.01	3.65±1.55	- -
CO ₂ mM%	7.56±3.50	3.61±1.72	3.26±1.27	2.45±0.82	2.87±0.31	3.54±1.74
Pco ₂ mmHg	7.31±1.22	10.99±4.36	3.67±5.71	1.68±5.86	2.25±2.87	1.79±3.85
Na mM%	3.35±1.47	4.47±2.92	4.27±1.96	6.63±2.86	3.74±0.43	- -
K mM%	1.40±0.30	1.70±1.59	1.66±1.28	1.29±0.55	2.05±2.15	- -
Cl mM%	3.25±1.03	4.50±2.56	3.61±1.46	7.29±3.11	4.63±0.44	- -
P mM%	2.33±1.47	1.59±1.03	2.50±0.97	2.38±0.34	2.39±0.51	- -
Urea mM%	6.98±2.09	7.45±3.41	8.09±2.62	10.01±5.81	8.68±3.70	- -
No of animal	3	10	7	4	4	10

** Means that the difference at 1% level as compared with the control.

こで蛙はこれを一定の恒温水槽にて飼育することとした。但し恒温槽の温度を15-18°Cに調節せるもの(低温群)と25-30°Cに調節せるもの(高温群)とがある。

採尿方法；蛙は水中に生棲する為、その採尿方法に困難を来し、その為に種々の予備実験を行った。蛙は犬と異なり解剖学的に尿管が総排泄管に開口している為、尿と尿が混じて排泄される。故に採集せる尿中に腸内容物を混入する事があり、その場合に腎臓より分泌された成分を正確に測定する事は出来ない(第1表)。そこでこれを避ける為、捕獲後約2週間食餌を与えずに飼育して、腸内容物が空虚になるのを待ち実験に供した。尚この様にして、絶食後に集めた尿の成分は捕獲直後総排泄管の上部で直腸を結紮して腸内容物の混入を避けて集めた尿、又直接に膀胱にカテーテルを挿入し貯留せる尿を集めたものとその組成を比較しても、大きな差のない事は第1表に明らかである。

次に24時間尿を水中にて採集する際には当然その尿を集める容器が問題となる。始め厚さ0.3mmのゴム袋およびポリエチレン袋を使用し、これ等の総排泄管に装着して尿を集めて見た。併しこれでは第1図に見る如く、遊離炭酸が袋の膜を通じ拡散して、Pco₂の減少とpHの上昇を来し不適當である。第1図は蛙尿を色々

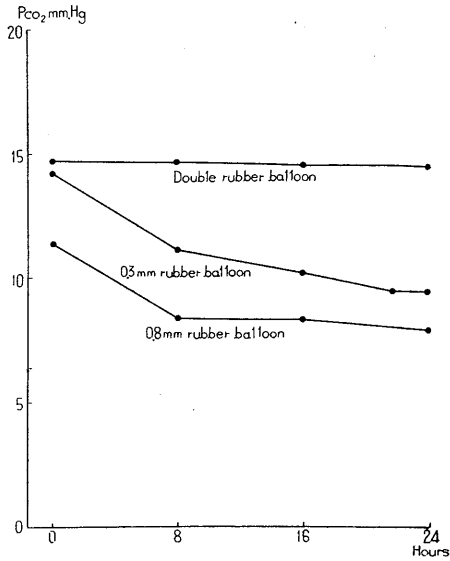


Fig. 1. Changes in Pco₂ of urine contained in rubber balloon of various thickness.

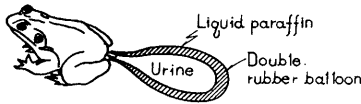


Fig. 2. A frog attached with a double rubber balloon.

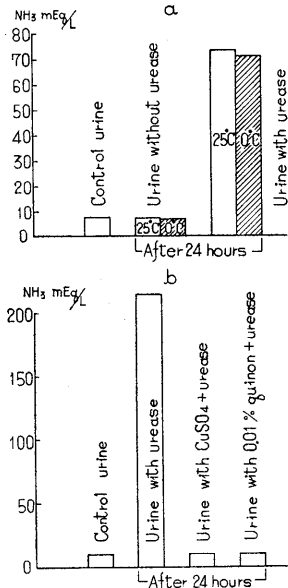


Fig. 3. Ammonia liberation from urine standing for 24 hours.

の採集袋に入れ、24時間水中 (25°C) に放置した場合の Pco₂ の変化をしめす. そこで厚さ 0.8 mm のゴム袋を2重にしてその間隙に流動パラフィンを入れて、炭酸ガスの脱出を止めてみた所、第1図に見る様に見事に炭酸ガス脱出を防ぎ得た. そこでこの袋の先にビニール管を付け総排泄管開口部に結紮糸を以ってとり付けて、この2重袋の中に採尿する事とした (第2図).

次に尿は 10-30°C の水中にて採集し、24時間放置する関係上尿中尿素が分解し、尿pH, NH₃, CO₂ 等に変化が現われる怖れがある. これを確かめる為に蛙尿を 25°C にて24時間放置し、その前後の pH, NH₃, CO₂ を測定した. その結果によると、24時間後には3者共に変化を認めないが、更にその中に黒豆より抽出せる Urease を添加 (豆粉 5g を 30% Alcohol 100 cc にて抽出せるものを尿 5cc に対し 2cc を加える) して見ると尿素は分解し pH は上昇し NH₃, 総炭酸は急増する. 第3図aは蛙尿を採尿後アンモニア濃度を測定し (対照), これを24時間 25°C 及び 0°C の恒温槽に放置した場合、又これに Urease を添加して尿素の分解を促進した場合のアンモニア濃度を比較したものである. bは尿素の多い人尿に就いて、これに Urease を入れて尿素分解を促進した場合、ここにさらに Urease 抑制剤の CuSO₄ や Quinon の結晶 (尿素 100 cc にたいし 10 mg) を入れた場合のアンモニア濃度の比較である. ここに見るごとく Quinon の少量を入れておけば相当 Urease が多い場合でも尿素分解を抑制し、pH, NH₃, 総炭酸の変化を生じない事が明らかである. そこで今後の実験には全例に於いて Quinon の少量を採尿袋中に混入して採尿した.

前述の方法で尿を6日間にわたって採取しその測定値を比較するに、日々多少の変動はあるが大差はない. その正常の変動範囲は第1表に示されている.

尚蛙の採尿に当ってはゴム袋を総排泄管に結紮して採尿する為に、余り長期間にわたると総排泄管附近の炎症を惹起し、これが化膿して尿

の汚染を来す。従って長期間採尿する事は實際上不正確な成績をまぬがれ得ないが、この程度の経過日数に於いては本法を充分使用し得る事が明らかであろう。

酸注入実験；蛙を無麻酔にて、四肢を固定し、その側胸部皮膚に少切開を加えて、筋皮静脈又は腕静脈より採血する。次いで腕静脈に直径 0.8 mm のポリエチレン管を連結し、これに1/10規定等張性硫酸を入れた注射器の針をつなぐ。かくして注射器を上吊上げて持続的に酸を注入した。酸は30-150分にて所要量を注入し、注入直後と注入終了後60-120分後に反側の上腕静脈より採血した。又注入酸量が多く、反側の静脈より採血不能な場合は開胸し、心臓穿刺を行って採血した例もある。次いで尿を採集すべくゴム袋を総排泄孔につけたままで蛙を水中に放した。

呼吸ガス代謝の測定；酸注入前、注入中、注入後を通じガス代謝を測定したものがある。測定法としては、蛙では気管カテーテルの挿入は困難であり、且つ蛙の呼吸付謝は肺及び皮膚呼吸の2系統に分れる。故に第4図に示す装置を考案し使用した。即ち体重に適した出来る限り死腔の少いガラス容器 a の中に蛙を入れ、容器の一端 b より室外空気を導入し、他方その反対端に附した硝子管 c を5% 硫酸を満したメスシリンダー d にとりつける。硫酸を呼吸量の2-3倍の一定速度にてポンプ e にて吸い出すと、a の中に外気が入って換気せられる。f は蛙に酸を注入する為の注射筒とそのポリエチレン管である。a に入った空気は蛙によってガス交換を受けた後に d に貯められるから、これを分析することにより注入前、注入中、注入後のガス代謝を測定することが出来る。そのガスの分析は Scholander 氏超微量ガス分析法²³⁾により、O₂、CO₂、N₂の濃度を求め、これに一定時間に採集せる採気瓶 d 中のガス量を乗じ、これと外気中のガス組成(実測)とにより単位時間内に蛙の消費せる O₂ 量及び呼出せる CO₂ 量を求めた。詳しい計算方法は文献²⁴⁾に記載されている。

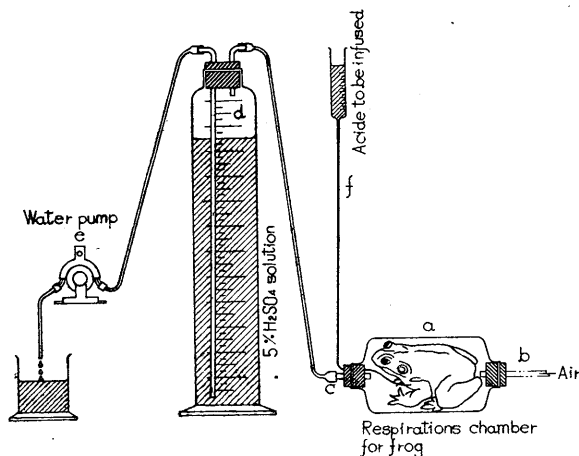


Fig. 4.

Schematic presentation of equipments for measuring respiratory metabolism of frog.

細胞外液量の測定；細胞外液量は酸注入前又は後の一定の時期に測定したが、何れも1日の尿を採取して、次の採尿にかかる時間を利用して、約1時間にわたって測定するを常とした。1時間ではその尿量が極めて僅かであって、正確な測定が困難である為、この細胞外液測定時の分文は1日尿の測定より除外した。細胞外液量の測定にはロダン法を用い、先ず蛙に2.5% ロダン曹達液を 2.0 cc/kg の割合で静脈内に注入し、正確に60分後に採血、採尿を行うのである。但しロダン曹達注射後30分、60分、90分、120分に採血して、その血清中の濃度を比較したるに、60分よりその測定値は殆ど変化していない事を確かめた。従って60分にしてロダン曹達は蛙細胞外液中に拡散して平衡に達したものである。又この場合にロダン曹達は僅かながら尿に分泌せられるから、注射後60分間の尿を集めて、そのロダン量を測定してこれを注射量より差引く事は一般ロダン間隙測定法の場合と同様である。ロダン曹達注入後60分の尿量は非常に僅少であるから、総排泄管より10 cc の蒸溜水にて反復膀胱内を洗滌して、その中に排泄されたロダン曹達を集めた。ロダン曹達の定量には原法に従って、尿へ等量の Crandall-Anderson 試薬を加えて発色せしめ、比色法(島

津式 Spectrophotometer) にて測定した。血清に於いては 20% トリクロール醋酸にて除蛋白後、除蛋白濾液に試薬を加えて発色せしめる。

ロダニ間隙の計算法は文献²⁵⁾に詳しいから省略するが、結局の所、

$$\text{ロダニ間隙量} = \frac{\text{注射せる尿に排泄され} \\ \text{ロダニ量} - \text{たロダニ量}}{(\text{1cc 血清水分中のロダニ濃度}) \times 1.05}$$

但し血清中の水分量は、血清比重より福山、佐藤式²⁶⁾を用いて求めた。今ここに求めたロダニ間隙量を細胞外液量とすると、血清について求めた総 CO₂ 濃度より

細胞外液量 × (HCO₃)_{血清水分濃度} × 1.05 = 総 HCO₃ 量として、細胞外液中の総 HCO₃ 量を算出した。

血液、尿組成の測定項目並びに測定法；以上の実験に於いて採血した血液は直ちに遠心分離し、その血清に就いて pH、総 CO₂ 濃度を測定した。測定方法は、pH は吉村式注射器型微量硝子電極²⁷⁾にて 25°C に於いて測定し、総 CO₂ 濃

度は斎藤式微量ガス分析法²⁸⁾にて行った。又 pH 及び総 CO₂ 濃度からは Henderson-Hasselbalch 式を用い Bunsen 吸収率 $\alpha = 0.744$, $pK' = 6.30$ を用いて血清 Pco₂ を算出した。但し pK' の値は $pK' = 6.46 - 0.5\sqrt{\mu}$ として算出したものであって、イオン強度 μ は氷点降下度 Δ を実測する事により求めたものである。

次に尿の測定項目は尿量、pH、総 CO₂ 濃度、Na, K, Cl, 無機 P, NH₃, 滴定酸度等である。その内 pH と総 CO₂ 濃度は血清と同様の方法により測定し、Na, K は Lange 氏 Flamephotometer により²⁹⁾、又 Cl は Brun の改良せる Schales & Schales 法³⁰⁾、無機 P は Rockstein 法³¹⁾、NH₃ を Conway の微量拡散法³²⁾により、又滴定酸度は吉村式滴定用硝子電極³³⁾を用いて 25°C にて一定量の尿を被検動物の血清 pH 迄滴定して、消費したアルカリ量より算出した。尿に就いて pH と総 CO₂ 濃度より Pco₂ を求める場合には血清と同様に Henderson-Hasselbalch 式を用いて、Bunsen 吸収率 $\alpha = 0.759$ を用い、又 pk' を実測値の μ より計算してこれ等を用いて算出した。尿のイオン強度 μ は尿の Na, K, NH₃, Cl, HCO₃, HPO₄ の濃度より計算した。

III. 実験成績

本研究に於いては、日々の代謝を測定しながら蛙に一定量の塩酸を注入して、その体液酸塩基平衡調節作用を比較生理学的に検討したのであるが、成績を一括して述べると複雑になるので、1) 酸注入時の血液酸塩基平衡と呼吸ガス代謝の変化と、2) 酸注入後の酸根排泄の状況とに分け、犬の成績と比較しながら述べる。

1) 酸注入時の血液酸塩基平衡と呼吸ガス代謝の変化

a) 一般的観察；先ず食用蛙に 3.0 mM/kg の等張性塩酸 (0.1 N) を 60 分間に注入した場合の成績を例にとって、酸注入時の血液酸塩基平衡の乱れや、呼吸機能の変化を説明する。第 5 図 a に見る如く血液 pH 及び血清総 CO₂ 濃度は酸注入と共に急速に低下し、注入直後に於いて最

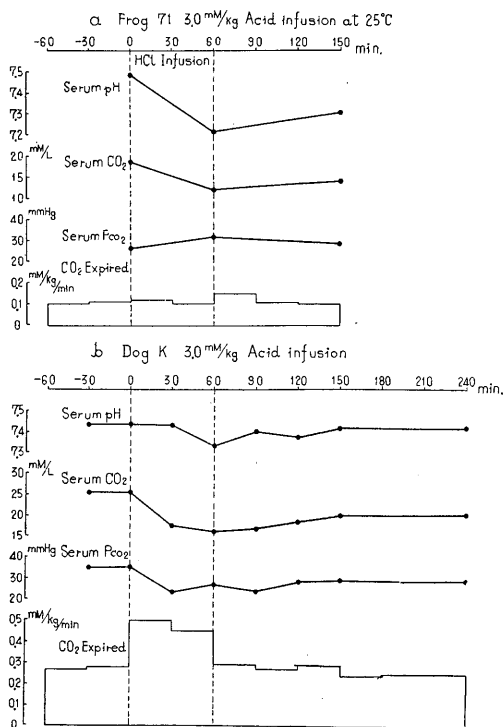


Fig. 5.

Effects of acid infusion on acid-base balance in serum and respiration.

低値を示すが、此等は注入終了と共に、漸次に回復している。以上の変化は犬について奥村が報告した酸注入実験の場合と同様であるが、只その変化の大きさが蛙とは異なっている。即ち第5図bは上例と同一量の 3.0 mM/kg の等張性塩酸 (0.16 N) を60分間に注入せし場合の成績であるが、犬に於いては、注入開始後血液 pH 及び総 CO₂ 濃度は蛙に比して極めて徐々に下り、注入終了時の最低値は蛙の血液 pH よりも高値に止まる。酸注入前の血液 pH は蛙の方が高かったのであるから、pH 低下度は犬の方が遙かに少い事になる。然も酸注入終了と共に犬では血液 pH は急速に回復に向い、注入終了後90分に於いて正常値に近く回復してしまっているのである。これと同様の関係は血清総 CO₂ 濃度、従って HCO₃ 濃度に於いても云い得る事である。

酸注入時に於ける呼吸ガス代謝の変化を見ると、犬に於いては第5図bに見る如く、注入開始と共に CO₂ 排泄は急増し、正常の血液 pH を維持せんとする反応が現われたのであるが、蛙の場合には第5図aに示す如く CO₂ 排泄の増加は酸注入中は殆んど現われず、只注入終了時に若干増加の傾向あるに過ぎぬ。従って血清 Pco₂ は犬の場合にはむしろ減少の傾向さえあったに対し、蛙の場合には Pco₂ は酸注入開始後に増加している。これは注入した酸により予備アルカリが中和せられて生じた CO₂ が呼吸により排泄されない為である。これと同様の酸注入時の呼吸ガス測定は6匹の蛙について行ったが、何れも成績は略同様であった。第2表はその成績を示し、表に示した犬の成績は蛙と比較する為に酸注入量の略等しい 3 mM/kg の例の成績を集めたものである。何れの例も犬は酸注入によって注入中の CO₂ 排泄が盛んである事が示されている。蛙も多少は CO₂ 排出の増加の傾向があり、これは注入のすんだ後90分迄の成績に就いても見られるがそれ程大きいものではない。

b) 酸注入量と血液酸塩基平衡；以上は酸注入時の血液酸塩基平衡や呼吸機能の変化を犬と蛙

Table 2.

CO₂ output by respiration during and after acid infusion in dog & frog.

Frog No.	70	71	72	73	74	75	Mean value
Total acid load mM/kg	2.5	3.0	2.4	3.0	3.5	3.5	
CO ₂ Expired mM/kg/min (% of the control)	Control period (30-60 min)	0.074 (100)	0.102 (100)	0.098 (100)	0.090 (100)	0.096 (100)	0.095 (100)
	Infusion period (60 min)	0.063 (85.1)	0.110 (107.8)	0.142 (144.9)	0.114 (126.7)	0.118 (122.9)	0.154 (163.5)
	90 min. after acid infusion	0.117 (158.1)	0.120 (117.6)	0.112 (114.3)	0.109 (121.0)	0.119 (124.0)	0.119 (125.8)

Dog No.	1	2	3	Mean value	
Total acid load mM/kg	2.6	3.0	3.5		
CO ₂ Expired mM/kg/min (% of the control)	Control period (30-60 min)	0.071 (100)	0.274 (100)	0.111 (100)	0.152 (100)
	Infusion period (60 min)	0.235 (33.1)	0.475 (173.4)	0.179 (161.3)	0.296 (194.7)
	90 min. after acid infusion	0.083 (116.9)	0.265 (96.7)	0.124 (111.7)	0.157 (103.3)

につき比較したものであるが、次に酸注入量を種々に変えた場合に就いて、蛙と犬の比較を行って見よう。上述の如く血清 pH は注入直後に最低値を示したが、その低下度は注入速度に大なる関係がある。第6図aは注入速度に対する1分間当りの pH 低下度即ち低下速度 (注入直後の pH の変化度を注入時間で除したもの) を示したものである。注入速度が速くなるにつれて血清 pH の低下も大となるのであるが、速度が 0.07 mM/kg/min 程度になると、pH の低下速度は急激に大きくなり、遂に死に至る例が多い。図の+印は注入直後に死に至った例であり、*印は注入の翌日に死んだ例である。犬に於いては蛙に比して、pH 低下度は僅少であり、蛙の致死速度の 0.07 mM/kg/min 以上に於いても急激な pH 低下は見られないのである。尙血清 pH の低下度は注入された酸の総量にも関係する事は奥村が犬の実験に於いて指摘した所であるが、この事は蛙に就いてもみとめられる。即ち第6図bは蛙実験に於ける注入総酸量と pH 低下の関係であるが、酸負荷量 9 mM/kg 迄の程度の所では $r=0.961$ の良好な順相関が認められる。而してこの内で注入速度が同じく 0.07 mM/kg/min 附近であって、注入量が 6 mM/kg であった a 群と、2 mM/kg の b 群とを比較すると、pH の変化速度は略相似

であるが注入直後の pH の変化量には著明な差がついて来る。むしろこれは当然の事である。又一方注入量が約 2 mM/kg であって、注入速度が 0.04 mM/kg/min の c 群と 0.07 mM/kg/min の d 群とを比較すると、血清 pH 低下度には大差がなく、ただ pH 低下速度は注入速度の速いものが速やかになっている。つまり蛙にあって

は、酸を注入した場合の血清 pH の変化は恰も一定量の緩衝液に一定濃度の酸を滴下する時と同様に注入速度の大小に拘らず、最後の結果は同じである。それは注入せる酸が速やかに細胞外液中に拡散する為に、注入速度の大小によって pH 低下度が影響されないからである。注入速度に関係するのは低下速度だけである。これ

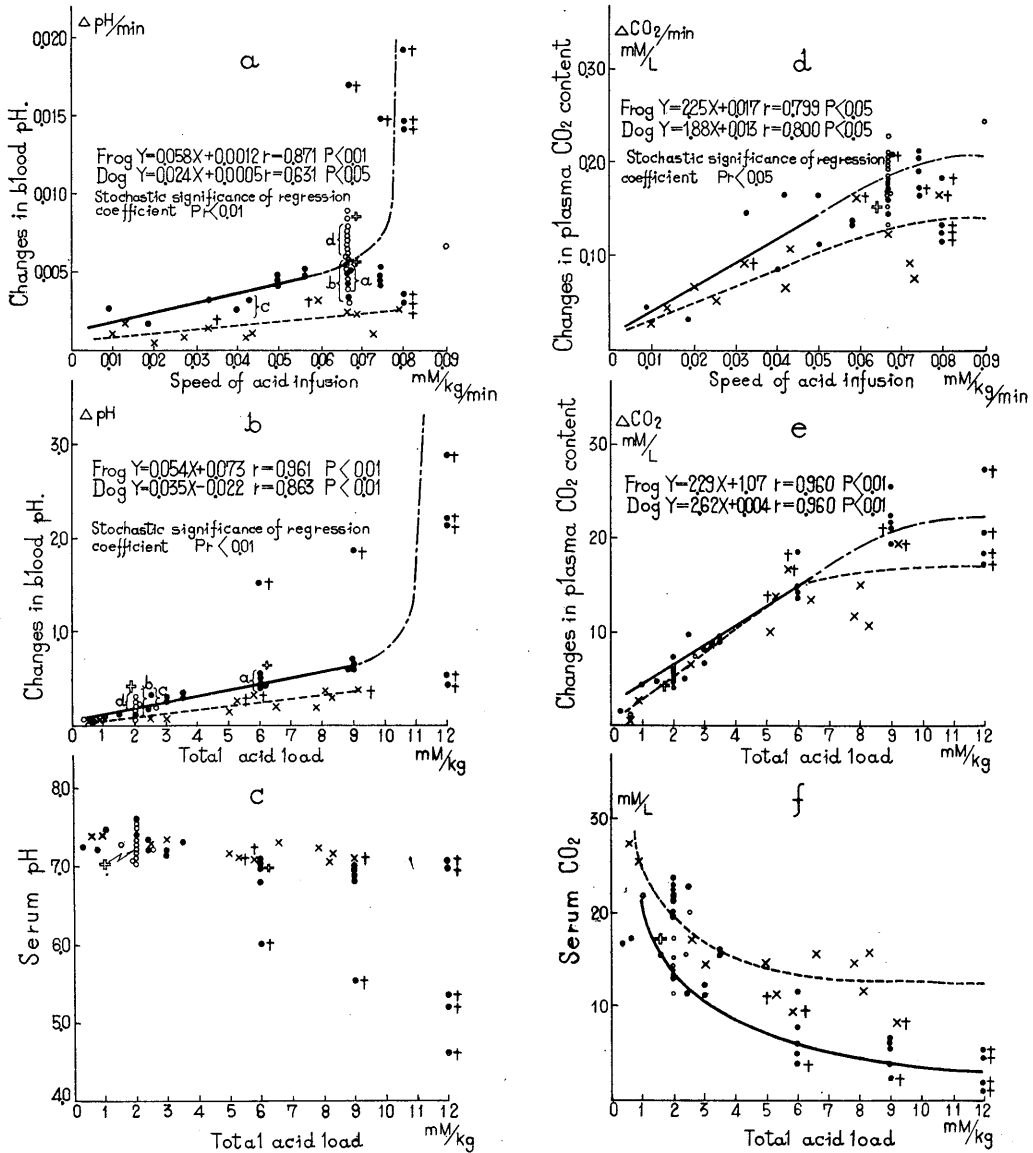


Fig. 6. Acid load and change in blood pH and plasma CO_2 content.

● Frog at 25°C . ○ Frog at 18°C . × Dog. + Death at the end of infusion. ⊕ Death on the next day. — Regression line of frog. ... Regression line of dog.

は犬にあっても略同様であるが、ただ犬実験に於ける血清 pH の低下度と酸注入量又は注入速度の間に見られる相関関係と蛙のそれとは回帰係数を異にし、1% の危険率を以て推計学的に有意に犬の方が低い。つまり犬の方が酸注入にたいして pH を一定に保つ能力が高いのである。これは後記の如く犬の場合には細胞内液の緩衝作用が蛙よりも現われ易く、且酸注入時の呼吸の促進が犬に於いて、顕著であって血液 pH が色々の点から蛙よりもよりよく一定に保たれている為である。

次に酸注入直後に於ける血清総 CO_2 濃度と酸注入量又は総 CO_2 減少速度と酸注入速度の間に於いても血清 pH と同様の関係が見られる(第6図 d, e)。ただこの場合には犬と蛙との酸負荷に対する血清 CO_2 の減少の速度乃至は減少量の差が pH の場合程顕著ではない。それは犬にあつては体液緩衝作用によって血液 pH 低下が蛙よりも少く、血清予備アルカリ減少も少い筈であるが、一方呼吸促進が激しい為に予備アルカリ減少が強く、その結果として蛙との差が余り大きくならなかつたものと思われる。又血液 pH の低下に際して見られた様に酸負荷量が多い時にその変化が急激になるのではなく、 CO_2 濃度が減少して一定値に近附かんとするのである。それは血清総 CO_2 減少量には一定の限界があるからである。

而してこの限界値は蛙よりも犬の方が遙かに少く、従つて血清総 CO_2 濃度と酸負荷量との関係を図示すると第6図 f に見るごとく、最低 CO_2 濃度は犬の方が蛙よりも遙かに高いのである。例えば蛙に於いては 9 mM/kg 以上の酸負荷によって、血清総 CO_2 濃度が 3 mM/l と云う非常に低い値に達して、死亡するものが多いにたいし、犬の場合には細胞内液の緩衝作用や腎臓よりの酸の排泄等により総 CO_2 濃度は約 11 mM/l 以下には低下せず、それ以上に下つた場合には総て死亡しているのである。

● 血液酸塩基平衡と致死限界；以上は蛙の酸注入後先存し得る範囲の所で、血清 pH 変化及び予備アルカリ量の減少に就いて述べたのであ

るが、ある程度以上に酸を注入すると死に至るのである。そこでこの致死限界を定める要因が何であるか、又蛙と犬と比較して何れの方が酸負荷によく耐えて生存を続け得るか等に就いて第6図 a, b, c と第6図 d, e, f を用いて検討して見よう。先づ第6図 a について酸注入速度と pH 低下速度との関係に於いて致死の限界を見るに、蛙については、上記の如く 0.07 mM/kg/min 以上の注入速度に於いて、血清 pH の変化速度は急激に増加して1分間当り 0.01 pH 以上の減少を見せ、何れも死に至っている。併しながらこの同じ速度に於いても、pH の変化速度が 0.005 の程度にとどまり、生存を続けたものも可成り存する。又 pH 変化速度が 0.003 pH/min の程度にして死亡するものも存する。故にこの場合の pH 変化速度の急激な増加はむしろ酸注入に依り蛙が死に頻し心臓の活動不十分となり、酸が充分に細胞外液中に混入せざる為であつて、心臓穿刺により採血したものでは pH の変化が非常に著明にあらわれてくるわけである。その結果としてこのような急激な増加を見せたのであつて、注入速度乃至は pH 変化速度によって一原的に死が決定するとは考え難い。

この事は血清総 CO_2 濃度の変化速度についても云える事で第6図 d に示した如く、ある一定の CO_2 濃度の変化速度乃至は酸注入速度以上に於いて致死の限界を定める事は不可能である。このことは図に示した犬の場合についても同様であつて、酸注入速度が可成り低いものでも、死亡したり、速度が速くても生存するもの等種々であつて、酸注入速度を致死要因とは見做し難い。これよりむしろ致死限界は次に示す如く、酸の注入総量に係る如くである。

即ち先づ蛙について云えば注入総量が 9 mM/kg 以上のものは全て死亡しており、又この点より以上に於いて pH の変化が急激に増加している。但し致死限界としての pH の変化量は正確に定める事は出来ないが pH 1 以上の変化を起したものは必ず死亡し、 0.5 の変化で死亡せるものも若干存する。而してこの場合の pH の

値は 7.0 である、これに対し犬の場合には pH の変化が 0.2 附近に於いて既に死亡せるものが現われている。それ以上の pH 低下に於いても生存するものも可成りあるが、致死限界値は pH の絶対値について見るとより明らかであり、第 6 図 c に見る如く pH 7.1 以下の場合には殆んど死亡している。以上の如き pH の致死限界に対し、血清総 CO_2 濃度減少度の致死限界値がより一層明確である様に見える。即ち第 6 図 f の如く血清総 CO_2 濃度が 6mM/l 以下に達した例の内約 90% が死亡する。犬の場合は死亡したものは全て CO_2 濃度が 11mM/l 以下に達したものである。血清総 CO_2 濃度変化量について比較すると蛙に於いては約 17mM 以上のものが多くは死んでいるけれどもこれには可成りの例外が存し、血清総 CO_2 濃度の絶対値が 6mM/l 以下に達せずして生存するものが可成り存する。従って死の原因として最も重要なものは血清総 CO_2 濃度の最低限界値である如き印象が得られる。このことは犬の場合も同様で 13mM/l 以上の総 CO_2 濃度変化量を示す 4 例中 3 例が死亡するが、その内の生存例は血清総 CO_2 濃度の絶対値は 11mM/l に達していないのである。

以上要するに致死限界を定めるものは速度でなく負荷総量であり、蛙の場合は 9mM/kg 以上であって、致死限界値としては pH で云えば 7.0 以下、血清総 CO_2 濃度で云えば 6mM/l 以下に達したものが死亡している。併し酸負荷による死の限界を定めるものとしては、pH よりも血清総 CO_2 濃度の方がより正確であり、これが死の最も重要な要因になるのであろう。一方犬の場合は血清 pH の限界は 7.1 以下であり、血清総 CO_2 濃度は 11mM/l 以下になっている。但し犬の場合にはこの様な死の限界を定める酸の注入量は蛙の様に正確に定める事は出来ぬのであり、 5mM/kg 以上で死を発生しているが、併しそれ以上の注入量にあっても血清 pH の変化や総 CO_2 濃度の減少がそれ程著しくなく生存しているものも存するのである。以上の成績より蛙は犬に比して、致死限界の pH

値及び血清総 CO_2 濃度の最低値が犬よりも低くなるので結局酸塩基平衡の乱れに抵抗して生き得る抵抗力は蛙の方が強い様である。しかし先に述べた様に一定の酸を入れた場合の酸塩基平衡の変化は犬の方がより軽くとどめ得る能力を持っている。即ちこれ等の動物の酸負荷に対する抵抗力は注入せる酸を緩衝し得る能力と変化せる pH 及び総 CO_2 濃度に耐え得る限界により定まるのであり、この相互作用が酸の致死限界を決定するのであろう。

2) 酸注入後の血液、尿酸塩基平衡

以上に於いて蛙と犬について、酸注入時の血液酸塩基平衡の乱れを犬のそれと比較して述べたが、次に酸注入後血液酸塩基平衡の乱れが時間の経過と共に回復してく状況及び、負荷酸が腎臓よりどの様な機構により処理されるかを、犬と比較して述べる。

先ず蛙に於いては外部環境、殊に水温に影響される事が大であるので飼育水温 25°C であった高温実験群と、 18°C であった低温実験群とに分けて行った。但し pH 測定は何れの場合も 25°C にて行った。第 7 図 a は 25°C 実験例の成績であり、第 7 図 b は 18°C 実験例である。何れも約 3mM/kg の等張性塩酸を注入した例である。又第 7 図 c は犬実験例であって 3.6mM/kg の酸を注入したものである。

先ず 25°C 実験例を見るに、図に示す如く、血清 pH は注入後 24 時間に於いて、殆んど対照値に近く回復しているが、血清総 CO_2 濃度に於いては遅く、数日にして漸く正常値に近く回復するのである。次いで酸負荷の腎臓よりの排泄は犬に於いては、酸注入後は NH_4Cl の形にて行われる事は既に明らかであるが、第 7 図 c の実験例に於いても、酸注入後第 2 日目より NH_3 の排泄増加が現われてくる。この増加せ NH_4Cl の量を積算して行くと、酸注入後第 5 日目に於いて、負荷酸は殆んど全部が尿中に排泄されてしまう計算になる。然るに蛙に於いては前報⁹⁾ に述べた如く、酸根は NH_4Cl の型として出されるのではなく H_2CO_3 と NH_3 と平衡せしめて、 NH_4HCO_3 の形にて酸根が排泄され

て行くのである。従って尿 pH と尿中アンモニア濃度の間には良好な順相関が成立し、犬とは反対の相関関係を認める。又尿中アンモニア濃度と尿総 CO₂濃度の間にも良好な順相関が成立している。此等は何れも前報⁹⁾に明らかであるが以上と同様の事は酸注入を行った本研究の成

績についても云える事である (第8図)。

所でこの 25°C の酸注入実験例に於いても、注入後24時間に於いては、尿 pH は著変なく、アンモニア排泄量も増加を認めていないが、2日目に至り、尿 pH 上昇と共にアンモニア濃度も急増し、共に排泄量も増して、注入後第5日

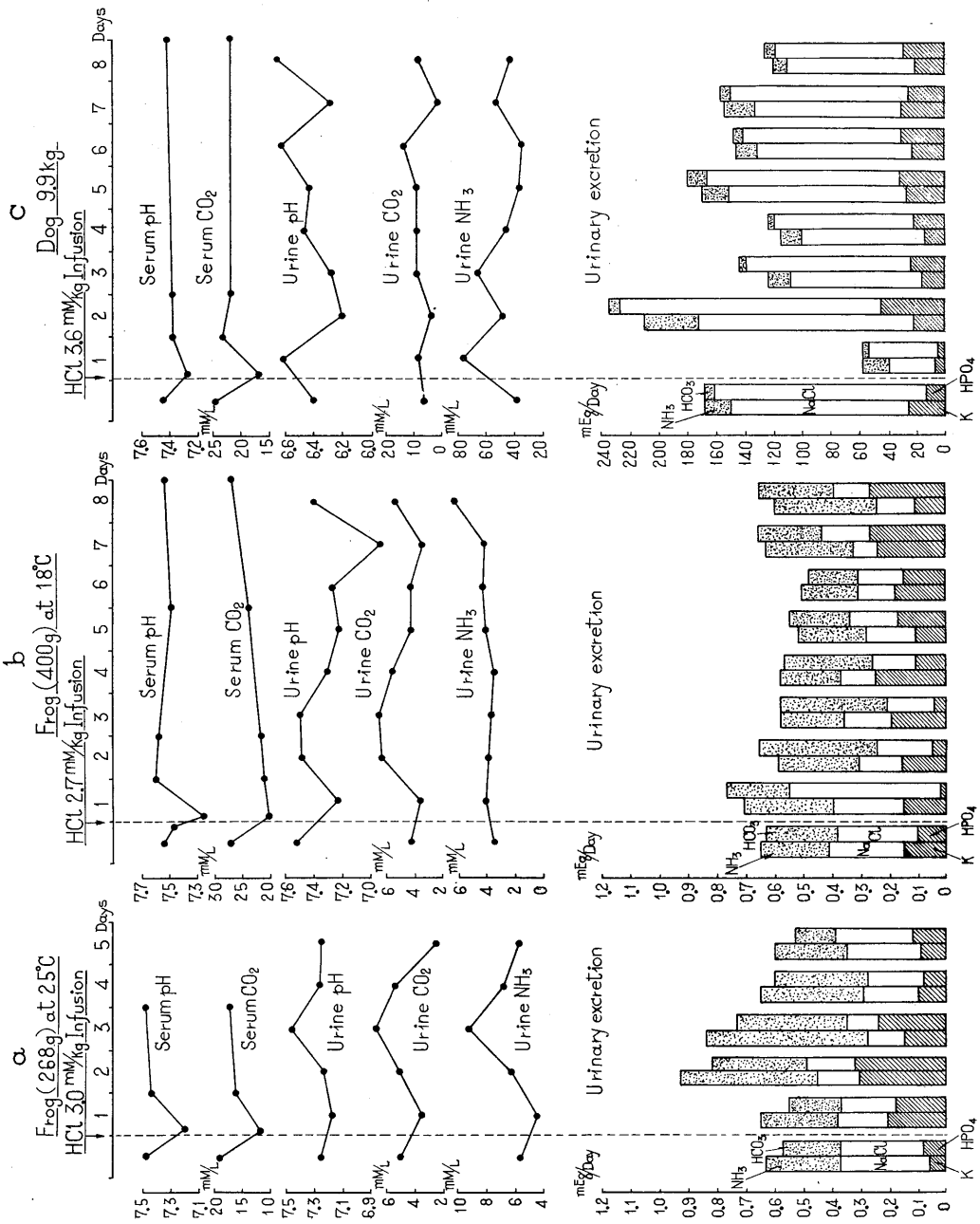


Fig. 7. Diurnal alteration of acid-base balance in blood and urine after acid infusion.

目には注入された酸根の量に相当した NH_3 が排泄せられた事となる。而して第8図に明らか

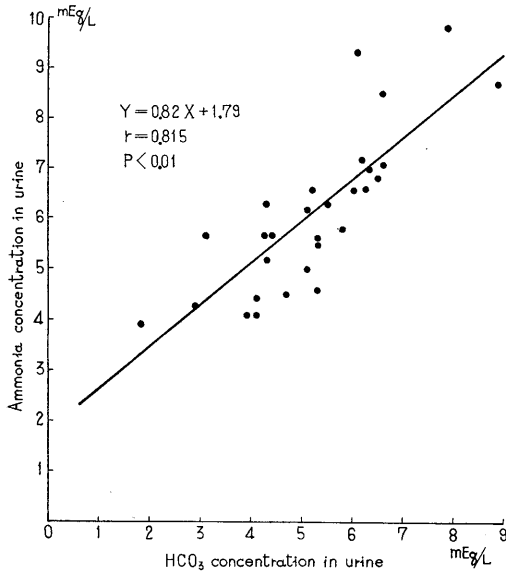


Fig. 8.

Correlation of urinary ammonia concentration with its bicarbonate.

な如く尿中 NH_3 濃度と HCO_3^- 濃度との相関線の回帰系数は約1であるから、尿中に出された NH_3 がそれと等量の H_2CO_3 を伴って NH_4HCO_3 の形にて排泄せられ、注入された過剰の酸根を先ず H_2CO_3 の形にて体外に捨てた事になるのである。この場合に滴定酸度の推移についても調べて見たが、酸注入後24時間にて幾分増す傾向はあるが、大きい意義はない。第9図Dはこの滴定酸度増加による酸根排泄量を酸注入後積算して行ったものであり、Cはこれに NH_4HCO_3 排泄量を加えた全酸根排泄増加量の積算値であって、図示のごとく、酸根排泄は主として NH_4HCO_3 排泄によるものである。尿 pH が酸注入後一時低下しても直ちに上昇の傾向をとるのはこの様に NH_4HCO_3 が増して来てその濃度に応じて尿の pH を NH_4HCO_3 溶液の pH (理論値 7.8) に近附けるからであろう。かくして 25°C 実験の5例(負荷酸量 2-3 mM/kg)に於いて、3-5日に、平均して酸注入後4日目に98%の酸が排泄される計算となる。

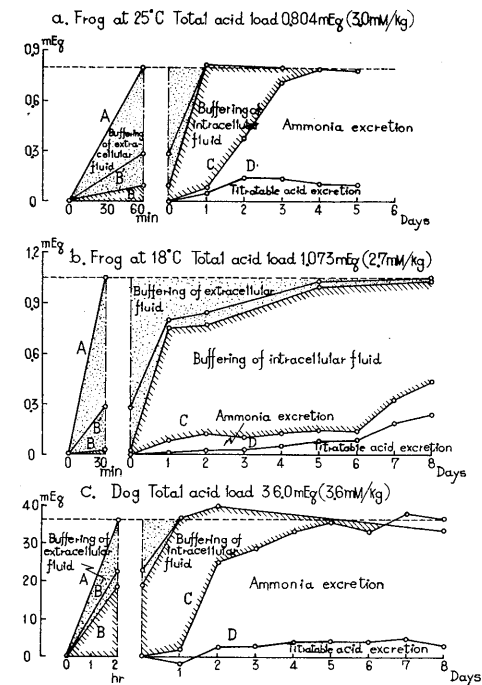


Fig. 9.

Regulation of acid-base balance in body fluid after acid infusion.

所で犬に於いては奥村の行った実験成績(負荷酸量 2.6-8.1 mM/kg)によると注入後3-5日目(5 mM/kg 迄の負荷酸量にては6日迄)に主に NH_4Cl として、排泄され正常に復して行くのであるが、その酸の体外への排泄に要する日数は蛙と大差ない事が明らかである。只異なるのは腎臓に於ける酸の処理機構である。この点に関しては後に於いて詳述する事とする。

次に低温実験例であるが、第7図b(酸負荷量 2.7 mM/kg)に示す如く、血清 pH の酸注入後の変化は犬及び 25°C の蛙実験例と大差なく注入翌日に既に対照値に回復している。血清総 CO_2 濃度に於いては、その復帰が僅少であり、注入後8日目に至っても未だ正常値には回復をしていない。このことは血清 pH は体液の予備アルカリによる中和によって、直ちに回復するが、中和によって失われた予備アルカリは容易に回復しない事であって、つまり犬に於いて見た様に細胞内液による緩衝作用が働かず、注入酸がそのまま細胞外液中にとどまっている事を意味する。この細胞内外液の緩衝作用について

は考按の所で更に詳しく述べる事とする。

尿 pH に関しては注入翌日には若干の低下を示し、尿中総 CO_2 濃度もそれに随行するが、尿アンモニア濃度に於いては犬および高温例のように数日の内に上昇することは見られない。強いて云えば注入後8日目に至って若干の上昇を来しているかと思われる程度である。従って NH_4HCO_3 及び滴定酸度の増加として排泄される過剰酸根量は僅少であって、酸注入後8日目に至っても負荷酸量の24%が NH_4HCO_3 の形で、滴定酸としては22%、即ち合計46%が処理されたに過ぎない。この事は犬及び高温蛙実験例と非常に異なる点である。

IV. 考 按

前述の如く、蛙に酸を注入した場合、犬に比べて酸注入量と血清 pH 低下度との関係は蛙の方が血清 pH 低下度が大きく、又血清総 CO_2 濃度減少度に於いても同様の結果を得た。その原因としては実験成績の部で述べた様に、呼吸調節作用が不完全である事も一つであるが、併しその外に細胞内液の緩衝作用が十分に働かない事も一因であるらしい事が暗示せられた。其他酸注入後の尿の滴定酸度の上昇や、アンモニア排泄も不充分であって、腎臓の酸処理能力も犬よりは劣っているらしい事が示された。そこでこれ等の関係を明らかにする為に、教室の奥村が犬に行ったと同様に生体の酸処理機構を3段階の調節作用に分って、その時期的推移を検討する事にする。酸塩基調節の3段の変化とは、第1段階として細胞外液の緩衝作用、第2段は細胞内液による緩衝作用、第3段は腎臓による酸根の排泄の3つであるが、今第7図に説明した蛙の酸注入例について説明する。

第9図aは 3.0 mM/kg の塩酸を 25°C で飼育した蛙に負荷した例であるが、図の縦軸には注入せる酸量並びにその体液の各部分によって中和された酸量を示し、横軸には注入開始後の時間の経過を示してある。尚蛙に於いて、細胞外液中の中和量を求めるには、前述の如くにして、注入前又は注入後の細胞外液量を求め、そ

れより細胞外液中の総 HCO_3 量を計算し、その減少量より酸中和に用いられた HCO_3 量を求めたのである。細胞外液中の緩衝物質としては、重炭酸塩の外に血清蛋白や血色素があるが、これは犬の場合と同様に *Hastings* の *Nomogram*³⁴⁾ を利用して、その中和量を求める事が出来る。但しこの場合の血液量は、*Berrickson* 等³⁵⁾ によって、体重の6.42%とした。今例えば図示の例に於いて、重炭酸塩以外による中和量を求めると、酸注入直後に於いて、全細胞外液中の中和量の7.8%に過ぎず、殆んど大部分の酸は予備アルカリにより中和される事が明らかである。併し僅かでも問題であるから、以後の細胞外液による中和量の計算には常にこれを算入する事にした。かくして酸注入60分間に入った酸量をA線にて示し、これより細胞外液による中和量を差引いて示した線Bは、細胞外液の緩衝物質以外の働きによる酸中和量を示す。但しBとB'の間隙は血液の緩衝物質による中和量を示す。

蛙に於いては酸注入実験中の尿分泌量は非常に僅少であるので、注入中の尿中への酸根排泄は殆んど零と考えて差支えない。故にこの注入総酸量より細胞外液中にて緩衝された量を差引いた残りは、細胞内液にて中和された事になる。

酸注入後24時間にもなれば、漸く尿の滴定酸度や、アンモニア排泄の増加が現われて来るから、尿への酸根排泄量cを求める事が出来る。よってこれを先の細胞外液以外の緩衝作用量より差引いたものが、この場合の細胞内液の緩衝量に相当する。

第9図aに見る如く、先ず酸注入直後に於ける体液の各部の緩衝作用を見ると、蛙に於いては細胞内液による中和量が僅少であって、酸負荷量の11.1%に過ぎず、注入総酸量の88.9%は細胞外液に当まっている事が明らかである。これに反して犬に於いては第9図cに見る如く、注入直後に於いて既に約50%が細胞内液によって緩衝されている。奥村の成績によると12例(酸負荷量 $0.6-9.2 \text{ mM/kg}$) の平均に於いて負荷酸の $35.0 \pm 18.4\%$ が酸注入の最後に於いて細胞内液によって緩衝されていて、蛙の成績の平均値

との間に1%の危険率で有意の差を認めるのである。

次に酸注入後24時間を経過すると負荷酸は殆ど全部細胞内に移り、細胞外液中にて中和されている量は殆どなく、血液pHや細胞外液中の総重炭酸量は元の正常値に回復している。この点は第9図cに示す犬実験例と同様の結果を示し、犬の値は細胞外液による中和量は負荷酸量に対し $-1.0 \pm 5.3\%$ であって、蛙の成績との間に差を認めない。只負荷酸の腎臓よりの酸根排泄は犬に於いては主として NH_4Cl として出され、蛙は NH_4HCO_3 の形で出されるからその処理機構は異なっている。併し何れにしても酸注入後3-5日目に過剰酸根がアンモニア塩の形にて体外へ排泄されてしまう事は実験成績の項で述べた通りである。

以上と同様の計算を5例の蛙(負荷酸量1.5-3.0 mM/kg)について行った平均値は第3表の如くであって、何れの蛙にも同様の事実が当嵌ることが示されている。

この様に蛙を25°Cにて飼育して、検査に供した場合には少くも著者の実験の範囲(負荷酸量1.5-3.0 mM/kg)に於いて、可成り犬の成績に近い成績が得られるのであるが、これを18°Cの低温にて飼育した場合には様相が違って来る事は実験成績の部にて述べた通りである。そこでこの場合にも上記と同様の計算によって細胞外液内液による中和量を計算すると、注入終了

時には、細胞内液の緩衝作用が現われていない事は高温実験群と同様であるが、注入24時間後になると、犬および高温実験群と比較して、特異な状況をしめすのである。即ち第9図bの実験例に見る如く、24時間目に於いては負荷酸の22.2%がいまだに細胞外液中に留まっているのであって、その後の時間の経過と共に徐々に細胞内液にて中和される量が増しては行くが、極めて微々たるものである。かくて注入後8日目に至って漸く全部が細胞内液にて中和され、細胞外液中の総 HCO_3 量は正常に復しているのである。この事は他の蛙についても略同様であって、9例の蛙(負荷酸量2.0-2.7 mM/kg)の平均値に於いても24時間後には負荷酸の63.8±14.9%が細胞内液にて緩衝されているに過ぎぬ事は第3表にしめされている。又この表に於いて、高温飼育蛙や犬に就いての平均値と平均値の比較を行って見ると1%の危険率にて有意の差を認める。そして注入酸が全部細胞内で緩衝されるのはこの平均値の表では注入後4日目になっているが、それでも高温飼育蛙よりも遙かに遅い。又第3段の腎臓よりの酸根排泄も遅く、第9図の例では8日目に至っても、負荷酸の46.6%に相当した過剰酸根が排泄されるに過ぎず、殆んど半量が体内に留まっているのである。これが何日目に体外へ排泄されるかについては、これ以上実験を続けなかったから不明である。

Table 3. Neutralization and excretion of acid infused.

Time after acid infusion	Frog (25°C) (Acid load 1.5-3.0 mM/kg)			Frog (18°C) (Acid load 2.0-2.7 mM/kg)			Dog (Acid load 0.6-0.2 mM/kg)		
	% Neutralization by E.C.F.	% Neutralization by I.C.F.	% Acid excretion in urine	% Neutralization by E.C.F.	% Neutralization by I.C.F.	% Acid excretion in urine	% Neutralization by E.C.F.	% Neutralization by I.C.F.	% Acid excretion in urine
End of infusion	94.3 ±3.3	5.7 ±3.5	0	92.1 ±10.4	7.9 ±10.4	0	63.2 ±13.6	35.0 ±18.4	1.8 ±6.9
24 Hours	-0.5 ±3.5	83.3 ±18.1	17.2 ±15.4	31.7 ±8.3	63.8 ±14.9	4.5 ±10.5	-1.0 ±5.3	113.3 ±14.3	-12.3 ±9.3
II Day	--	--	53.1 ±19.3	--	--	4.6 ±16.5	--	--	46.9 ±30.5
III Day	--	--	81.7 ±12.6	--	--	4.2 ±17.6	--	--	64.5 ±26.2
IV Day	0.8 ±1.0	2.7 ±16.6	98.1 ±14.6	2.7 ±7.3	92.0 ±28.0	2.7 ±18.9	--	--	78.6 ±14.7
V Day	--	--	93.3 ±0.9	--	--	6.2 ±15.5	1.1 ±0.9	1.9 ±14.8	93.9 ±15.7
VI Day	--	--	--	--	--	10.1 ±15.5	--	--	100.7 ±16.0
VII Day	--	--	--	--	--	15.1 ±15.5	--	--	--
VIII Day	--	--	--	--	--	19.2 ±17.3	--	--	--

以上のごとく蛙にあっては負荷された過剰の酸根は遅速の別はあるとしても、ようするに NH_4HCO_3 の形にて排泄されて行く。併し負荷された酸はHClであって、生体は一応 H_2CO_3 をHClの代りとして、酸塩基平衡を保ったとしても、生体内に注入されたClは早晚何等かの形にて処理しなければならぬ。そこで試みに第9図にあげた例について、酸注入前のCl排泄量の平均値を基線(零位)にとり、

酸注入後に於いてこれより過剰に排泄されたCl量は+の方向に寡少に排泄された量を一の方向にとって、酸注入後の日を追ってこれを積算してみた。その結果は第10図に見る如く、酸注入後Clの排泄は必ずしも増加するとは限らず、むしろ減少して体内にClが蓄積する傾向さえ見えるのである。これに対し犬の場合には酸注入後のNH₄Clの排泄により、注入せるClは全部体外に排泄された事となる(奥村論文第12図参照)。同様の計算をNa, K, HPO₄等について行って見た結果、図示の如く酸注入後に排泄がやや増加するのはKと磷酸塩である。これに反しNa, Clは共に排泄を減じて体内に蓄積する傾向が強く現われるのである。思うに蛙に於いては食塩の摂取が常に困難であるが為、その結果注入されたHClは体液のNaHCO₃により中和されてNaClとなれば、これが血管球より濾過されてもAcidosisによるNa逆吸収の増加により、体液中に回収されてしまうのであろう。この場合に哺乳類ならばNaの逆吸収が増しても、NaはH⁺やNH₄⁺と交換される為Cl⁻はNH₄Clの形にて尿中に排泄されるのであるが、蛙に於いてはこの場合H⁺とNa⁺との交換機転が未発達である為、Na⁺の逆吸収はCl⁻の逆吸収を伴って共に体液中に残存する結果を生ずる。

一方注入せるHClがNaHCO₃と中和されて生じた過剰のH₂CO₃は前述の如く呼吸機能が未発達の為哺乳類の様に、外界に呼出される事なく、腎臓より一応はNH₄HCO₃の形で体外に排泄し、体液酸塩基平衡を保つのである。而してKHPO₄の排泄が酸注入後に高まってはいるが、KやPが増加して来るのは恐らく、過剰に体液中に残存したNaClが細胞内にも侵入しKやPと交換されて細胞外液中に出る結果である。

以上の様な変化は18°Cの低温で飼育した蛙にては非常に僅かであり、その場合のNaClの体内過剰蓄積は起るものと起らぬものとある。又NaClが過剰に排泄される例もあるし、KやHPO₄の排泄増加も僅かである。これは低温に

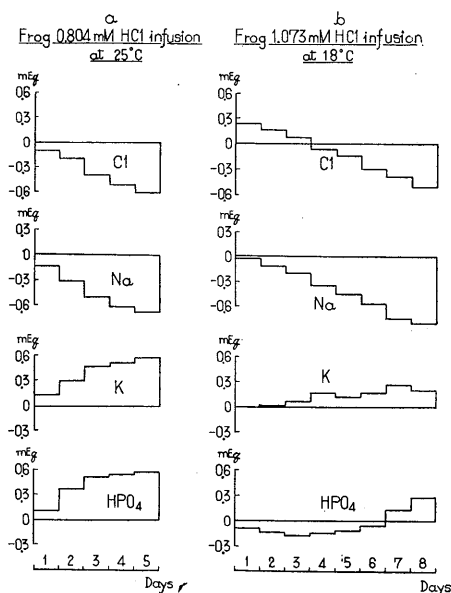


Fig. 10.

Summation of daily excessive output of ions in urine after acid infusion.

於いては以上の様な尿細管細胞の酸負荷に対する反応性が低い為酸負荷時のNa逆吸収の増加が余り起らず、その為酸を中和して生じたNaClはそのまま排泄されるのであろう。KやPの過剰排泄も低温に於いては、高温時よりも低い、これも細胞内のK, HPO₄とNaClとの交換が活発でない事に関係するのであろう。又NH₃については低温時に於いて分泌量が高温時に比べて少い事は既に述べた通りである。

何故に低温時に尿細管細胞のアンモニア分泌が低下し、Na逆吸収も少く酸の処理能力が盛んでないのか、又何故に細胞内液の緩衝作用が低温では現われにくいのであるか、此等については今ここに明言する事は出来ないが、環境温度の差が影響する事自体がこれに何等かの化学反応の関与せる事を暗示する。即ち腎臓に於けるアンモニアの生成は尿細管細胞のGlutaminase活性に基づく所が大きい、これは低温に於いては著明に活性を減ずるから、低温飼育蛙に於いてはアンモニア生成も又減少するのである。注入せる酸が組織細胞内液により緩衝される程度が、温度により変る理由も細胞膜に於けるイ

オンの移動は膜の Active Transport に基づく所が大きいとすれば、これが温度に影響される事は当然であると云って良い。併し犬と蛙に見られた細胞内液の緩衝作用の差が果してその体液温度の差のみにて説明し得るや否や、言を換えれば細胞内液と外液間のイオン交換は細胞膜の透過機構の如何に関するものであるから、その機構上の差があるかどうかについては全く判らない。この事は今後の研究問題であろう。

以上の如く食用蛙は犬に比して、負荷酸の緩衝作用や腎臓に於ける処理が犬に比して弱い事が明らかとなったが、一方呼吸機能による酸根排泄もまだ甚だ不完全である。これは上記の実験成績の部にて述べた所である。併し他方に於いて死をまねく酸注入時の血液 pH 低下度はむしろ犬よりも大きく、pH の変化に対する耐性が強いとも云い得る。従って此等を総合した場合に果して犬と蛙とは何れが酸負荷に対して強いのであろうか。これについて次の様な表を作った。

第4表の酸負荷量は体重 kg 当りの HCl 注入量であって、血清予備アルカリ量の減少量は酸注入終了時と注入前値との差である。又酸注入後10日間の観察に於いて死亡せるものを死と判定し、それ以上生きのびたものを生と判定した。表に見る如く酸負荷の全ての量について犬よりも蛙の方が総体として血清予備アルカリの減少量が大きく、激しい Acidosis が現われている。又生死の判定より比較するに、6.1-10.0 mM/kg の負荷酸量で蛙は全例が酸注入の直後に死亡しているに対し、犬に於いては必ずしも

Table 4. Resistance against acid load in frog & dog.

Acid load (mM/kg)	Frog			Dog		
	Decrease of alkali reserve in serum (%)	Surviving cases	Dead cases	Decrease of alkali reserve in serum (%)	Surviving cases	Dead cases
0.3-2.0	1.0-6.9	18 (6 (25°C) 12 (18°C))	5 (0 (25°C) 5 (18°C))	1.0-2.7	2	0
2.1-4.0	5.3-9.8	6 (5 (25°C) 1 (18°C))	1 (1 (25°C) 0 (18°C))	6.3-9.5	8	0
4.1-6.0	13.5-18.5	4 (25°C)	2 (25°C)	10.1-16.0	9	2
6.1-10.0	19.2-25.5	0	5 (25°C)	11.0-19.2	4	1
10.1-12.0	17.4-27.4	0	5 (25°C)	—	—	—

全例が死亡していない。又 4.1-6.0 mM/kg の負荷にあっては犬の方が蛙よりも死亡例の比率が少いし、0.3-4.0 mM/kg の酸負荷に対しては犬は死亡せるものなきに拘らず、蛙には若干の死亡例を見ている(又犬は酸注入直後に死亡せるもの以外は何れも生存する)。この死亡せる蛙は何れも負荷酸量が 2.0 mM/kg 以上のものであって、それ以下では死亡していない。然もこの場合の死亡例は殆んど 18°C の実験群に属するものであって、酸注入後数日にして死亡している。この事は前述の如く低温時の蛙は高温時の蛙よりも腎臓の酸処理能力が悪く、又細胞内液の緩衝作用が現われにくい事に起因すると考えられる。尙この表の成績について気附かれる事は蛙にあっては死を来す酸負荷の限界値の個体差が非常に大きい事である。これも又両棲類の1つの特徴であるかもしれない。

要するに蛙は血液 pH の低下や予備アルカリの減少そのものにたいしては犬よりも耐性が強いが、併し体内に入った酸を処理して中和したり排泄したりする能力が劣っているために酸注入量にたいする抵抗性を比較すると、蛙の方が犬よりも劣っている。而して致死限界は犬では 4.0 mM/kg 以上であるに対し、蛙では 2.0 mM/kg 以上である。

V. 総 括

食用蛙に 0.3-12.0 mM/kg の等張性塩酸を静脈内に注入して、体液酸塩基平衡の変化、体液各部分の緩衝作用及び腎臓よりの酸根排泄の状況を調べた結果以下の様な成績を得た。

1) 蛙と犬に同様の酸を同じ速度で静脈内に注入し、その現われる酸塩基平衡の乱れを比較すると、蛙の方が血液 pH の低下度は激しく、また血液予備アルカリの減少量が大きい。又 Acidosis の回復も遙かに遅い。而して酸注入時の血液 pH 低下度は負荷酸量に比例し、注入速度には関係しない。但し pH の変化速度は注入速度に関係する。また血清総 CO₂ 濃度減少度や減少速度についても同様の事が云える。これは注入せる酸が直ちに細胞

外液中に拡散する為である。

2) 酸注入による蛙の致死限界値は血液 pH に於いては、変化量が 1 以下であり、絶対値は 7.0 以下である。血清総 CO_2 濃度に於いては変化量は 17 mM 以上であり、絶対値は 6 mM/l 以下を示した。この様な血液 pH の低下や血清総 CO_2 濃度減少の致死限界値は、犬のそれに比して可成り大きい。この点蛙は犬よりも酸塩基平衡の乱れに対し耐え得る能力が強いと考えられる。

3) 酸注入時の呼吸機能の亢進は犬に於いては顕著であるが、蛙にては殆んどみとめられない。又酸注入直後に於いては体液各区間の緩衝作用を計算すると、犬に於いては細胞外液による緩衝作用は 63% であり、既に細胞内液による中和量が 35% を示しているのに反し、蛙に於いては酸注入直後では細胞内液の緩衝作用は殆んど関与せず、大部分 (94%) は細胞外液にとどまっている。この様に呼吸機能が未発達なる事と細胞内液による緩衝作用が現われないうえに蛙は犬に比して強度の Acidosis を惹起する。

4) 酸注入後時間の経過と共に各体液区間の緩衝作用は変化し、 25°C 飼育蛙群にては犬に見たと同様に 24 時間後殆んど 100% が細胞内液にて中和せられる。 18°C 飼育蛙群にては、24 時間後に於いても尙注入酸の 31.7% は細胞外液中に残留している。そして時間の経過と共に、内液に中和される量が多くなり、数日の内に全部内液にて緩衝されるに至る。即ち低温度に於いては細胞内液による緩衝作用は緩除にしか現われて来ないのである。

5) 酸注入後の尿中への酸根排泄は犬に於いては大部分が NH_4Cl の形にて、数日の内に体外に全部排泄せられるが、蛙に於いては NH_4HCO_3 の形にて過剰酸根の排泄が起る。そして体液にて中和せられた HCl は NaCl の形となって、体内にとどめられて血液成分として利用せられる。又 Acidosis に際しては細胞内 K-Phosphate が細胞外に遊出して尿中に排泄せられる。

6) 以上の如き酸根の NH_4HCO_3 としての尿への過剰排泄は高温時には (少くとも 3 mM/kg

の負荷酸量迄の範囲にて) 犬と略同様に速やかに現われるが、低温時にはその排泄が著しく遅れる。又 NaCl の蓄積や K-Phosphate の排泄も低温群にては僅かである。

7) 以上の如く蛙は犬に比べて、血液 pH の低下や予備アルカリ減少に耐える能力が高いが、他方体液中に負荷せられた酸を体液にて中和したり、呼吸機能や腎臓機能により排泄して処理する能力が犬よりも劣っている。

そこで此等を総合した結果として死に至る迄の負荷酸量を犬と比較すると蛙では 2 mM/kg 以上の塩酸負荷が死の限界であるに対し、犬にてはこの程度の酸に対してはよく耐え、 4 mM/kg 以上に於いて死亡するものが現われる。即ち犬の方が蛙よりも酸に対して強い事が明らかである。

擧筆するに当り、恩師吉村教授の終始御懇切な御指導と御校閲に心から感謝致します。

文 献

- 1) Baldwin (1954) The Kidney. Boston. Little, Brown and Company 124
- 2) Hodler, J., H. O. Heinemann, A. P. Fishmann and H. W. Smith (1955) Am. J. Physiol. **183**, 155
- 3) Hernandez, T. and R. A. Coulson (1957) Am. J. Physiol. **188**, 485
- 4) Coulson, R. A. and T. Hernandez (1955) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **88**, 682
- 5) Wolbach, R. A. (1955) Am. J. Physiol. **181**, 149
- 6) Richterich, R., L. Goldstein and E. H. Dearborn (1958) Am. J. Physiol. **192**, 392
- 7) Rector, F. C., JR. W. Donald. Seldin, J. H. Copenhaver (1955) J. Clin. Invest. **34**, 20
- 8) Rector, F. C., JR. W. Donald. Seldin, J. H. Copenhaver (1954) Am. J. Physiol. **179**, 353
- 9) Yoshimura, H., M. Yata and M. Yuasa (1960) Jap. J. Physiol. **11** (掲載予定)
- 10) Swan, R. C. and R. F. Pitts (1955) J. Clin. Invest. **34**, 205
- 11) Pitts, R. F. (1948) Federation Proc. **7**, 418
- 12) Pitts, R. F. (1949) J. Clin. Invest. **28**, 423
- 13) Pitts, R. F. (1950) Am. J. Med. **9**, 356
- 14) Berliner, R. W. et al. (1952) Federation Proc. **11**, 695
- 15) Orloff, J. and R. W. Berliner (1956) J. Cl. Invest. **35**, 223
- 16) Berliner, R. W. et al. (1950) Am. J. Physiol. **162**, 348

- 17) Berliner, R. W. et al. (1951) *Am. J. Med.* **11**, 274
- 18) Darrow, D. C. (1948) *J. Clin. Invest.* **27**, 198
- 19) Darrow, D. C. (1950) *J. Am. Med. Ass.* **143**, 365
- 20) Darrow, D. C. et al. (1953) *Am. J. Physiol.* **172**, 55
- 21) Elkinton, J. R. (1955) *Body Fluid*. Baltimore. U. S. A.
- 22) 奥村 修 (1958) *日本生理誌* **20**, 966
- 23) 笹本 浩・枝 弥・伊賀六一 (1953) *呼吸と循環* **1**, 115
- 24) 鈴木慎次郎 (昭和23年) *労働のエネルギー原則* (誠文堂版)
- 25) Crandall, L. A. and M. X. Anderson (1934) *Am. J. Dig. Dis. & Nut.* **1**, 126
- 26) 福山富太郎・佐藤徳郎 (1949) *医学と生物学* **11**, 400
- 27) 吉村寿人 (1948) *pH の理論及び測定法* (丸善版)
- 28) 斎藤幸一郎 (1937) *日本生理誌* **2**, 213
- 29) 吉村寿人・井上太郎 (1959) *日新医学* **46**, 1
- 30) Brun, C., H. W. Smith (1956) *Principles of Renal Physiology*. 214
- 31) Rockstein, M. and P. W. Herron (1951) *Anal. Chem.* **23**, 1500
- 32) Conway, E. J. (1950) *Microdiffusion Analysis and Volumetric Error*. London
- 33) 浅田照夫 (1957) *日新医学* **44**, 674
- 34) Hastings, A. B. and W. B. Singer (1948) *Medicine* **27**, 223
- 35) Derrickson, M. B. and W. R. Amberson (1934) *Biol. Bull.* **67**, 329

体液酸塩基平衡調節作用に関する比較生理学的研究

(第2報) 腎臓の **Glutaminase** 及び **Carbonic Anhydrase**

含量の比較 612.019.76.89:612.461.177

Studies on comparative physiology of acid-base balance in body fluid
(Part II) Comparison of glutaminase and carbonic anhydrase
activity in kidney among various animals

箭 田 正 輝 (YATA-Masateru)*

Activities of glutaminase and carbonic anhydrase in unit weight of kidney approximately the same in frog, and dog. The same can be said with glutaminase activity in rat kidney. It follows that ammonia as well as carbonic acid may be produced in frog tubule cells similarly to those in dog's kidney.

In frog urine, however, ammonia is excreted as ammonium bicarbonate, not in form of NH_4Cl and its pH can not be lowered under 6.5. Therefore, it is presumed that ionic exchange mechanism between H^+ (or NH_4^+) with Na^+ is lacking in tubule cell membrane of frog kidney. It was verified that adrenal cortex which may promote the ion exchange mechanism is so far underdeveloped in frog as compared with dog. But it is not certain that this fact may have some meaning in failed ionic exchange mechanism of frog kidney.

I. 緒 言

両棲類の体液酸塩基平衡調節作用を比較生理学的に解明せんが為第1報¹⁾に於いては、食用蛙に等張性塩酸を静脈内に注入して、その体液酸塩基平衡の乱れ及び負荷酸の腎臓よりの排泄を時期的に解明して、哺乳類(犬)のそれと比較した。その結果として蛙は犬に比して酸負荷に対する抵抗性が弱い事が明らかとなりその原因としては

1) 細胞内液の緩衝作用が犬に比して現われにくい。

2) 酸注入時に於ける呼吸機能による調節機構が未発達である。

3) 腎臓よりの酸根排泄の未発達等の事が主となつている事を明らかにした。

そこで著者はこの内の蛙腎臓の酸根排泄機能の不完全な理由が奈辺にあるかを、更に追求したいと考えた。元来哺乳類にあっては、腎臓は

体液中の過剰の酸根を滴定酸度の増加と塩化アンモニアの形によって、排泄して行くのであるが、蛙にあってはこの酸性尿の生成(滴定酸度の増加)が弱く、又アンモニア塩は NH_4HCO_3 の形で排泄せられ、酸の処理機構は犬と大部様相を異にするのである。

この様な腎臓の酸処理機能の差の原因につき考えるに、これは2つの機構につき検討する必要がある。第1は尿細管細胞内に於ける酸性尿生成の原料とも云うべき炭酸の生成及び Glutamine 其他の材料よりのアンモニア生成の機構であり、第2はこの尿細管細胞内の H^+ や NH_3 を尿へ分泌する機構である。前者に対しては、Carbonic Anhydrase (Pitts)²⁾ や Glutaminase (Rector³⁾⁴⁾, Goldstein⁵⁾ が関与する事が明らかであるから、蛙の腎臓について先ずこれ等の酵素量が犬と同程度に存在するかと云う事が問題である。

又後者に関しては我が教室の藤本⁶⁾、杉本⁷⁾等の研究によって H^+ や NH_4^+ の分泌は尿中の Na^+ とのイオン交換による所が大きく、これに対しては副腎皮質が関与せる事が明らかに

* 京都府立医科大学第1生理学教室(吉村寿人教授
1st Dept. of Physiol., Kyoto Prefectural Univ. of Med.
[昭和35年9月28日受付])

せられている。従って尿細管細胞のイオン交換過程との関連に於いて、副腎皮質機能の比較生理学的研究が必要である。そこで本論文に於いては、此等の諸問題につき著者の行った研究について述べて見たいと思う。

II. 実験方法

実験動物としては、捕獲後恒温水槽中に25°Cにて10日間飼育せる食用蛙を用い、また犬は雑種成犬を使用した。そして此等動物の腎臓の Glutaminase, Carbonic Anhydrase (以下C.A.と記す) 含有量を測定して、これ等が犬と蛙とで異なるかどうかを検討した。尙鼠の腎臓の Glutaminase を測定しているのでその成績をも参考に供した。其他副腎皮質の動物別比較の為に、先づその組織像を犬と蛙について、比較する事にし、皮質ホルモン殊に Mineral Corticoid の酸性尿、アンモニア生成に及ぼす影響については豊木等の研究にまかせる事にした。

1) 腎臓の Glutaminase 及び C.A. 測定にかかる前に、先づ腎臓中の血液の影響を避ける為に蛙に於いては腹壁切開後腎動脈及び腎門静脈に1mmのポリエチレン管を挿入し、それより等張性食塩水を以って灌流した。そして腎静脈より流出せる灌流液が透明になり、腎臓中の血液が充分食塩水にて洗い出される迄灌流を続けた。

犬に於いてはチクロパンソーダ麻酔後開腹して腎臓を剔出後、腎動脈より等張性食塩水を以って灌流するのは蛙と同様である。

蛙に於いては灌流後腎被膜および腎臓前面に附着せる副腎組織を除去し、両側腎臓を測定に使用した。一方犬に於いても同様に腎被膜をとり、その外側縁に沿って縦軸に平行に2つに切断しその半分を用いた。

両者の腎組織には夫々等張性食塩水を加えてガラス製 Homogenizer にて5%の Homogenate を作製した。Homogenate 作製中は過熱を避ける為に水中で冷却しつつ行った。

a) Glutaminase 活性の測定法

腎臓には Glutaminase I と Glutaminase II

があり、夫々至適 pH は 8.8 及び 7.4 であり、Goldstein⁵⁾等は夫々両者を測定している。著者は Rector³⁾等の行った方法により基質の pH を 8.0 として測定を行ったから、Glutaminase I と II の両方が混じて測定せられた事になる。上述の Homogenate はその 0.2 ml を次の物質を含む試験管中に加える。

0.3 ml 0.25 M Tris (Hydroxymethyl) Amino-methane

0.4 ml 0.6 M Sodium Phosphate

0.15 ml 0.12 M Sodium Cyanide

0.25 ml 0.2 M L-Glutamine

0.2 ml Aq. dest

(此等の試薬を混合した後に流動パラフィンをして 2 cm 位の厚みに重畳しておく)。

かくて流動パラフィン下の試薬中に Homogenate を加えたる後、これを 37°C 30分間恒温水槽中に放置し、Glutamine よりアンモニアを発生せしめる。正確に30分経過した所でこの中に 50% Perchloric Acid 0.15 ml を加えて、Glutaminase 作用を抑制してアンモニアの発生を止め、これを遠心器で直ちに遠心してその上澄をとる。そして上澄 0.1 ml に対し10倍稀釈の Nessler の試薬 3 ml の割合に混じて発色せしめ島津式 Spectrophotometer (波長 420 μ) により Optical Density の測定を行った。尙盲検としては上記の試薬中に Homogenate の代りとして蒸留水を入れて同様に操作し Nessler 試薬により発色せしめる。その Optical Density をさきの被検液について得られた Optical Density より差引いて検量線によってアンモニア量を計算するのである。ここに求められたアンモニア量は一定量の Glutamine より Glutaminase 作用により生じたものであるから、Glutaminase 活性の強弱によってその量に差を生ずる。従ってこれより Glutaminase 量を比較する事が可能である。尙 Glutamine 溶液を作製後長期間放置しておくとか加水分解によりアンモニアを生じ測定時誤差が大となるので、Glutamine 溶液は測定直前に調整せねばならぬ。

Glutaminase 活性はその作用時間1時間当り

腎臓生組織 1g 当りのアンモニア産生量 (μM) で表わしたが、念の為に Homogenate 1 ml 当りの総窒素量 (N) を半マイクロ Kjeldahl法⁸⁾にて測定し N 1 mg 当り 1 時間当りのアンモニア産生量 (μM) をも計算した。

b) Carbonic Anhydrase 測定法

C.A.測定法としては種々の方法があるが、比較的簡単であってしかも精度の高い Altschule 法⁹⁾を若干改良して用いた。その詳細は岩崎の論文¹⁰⁾によく記載せられてあるから省略する。ただ C.A. の活性を表わすには無稀釈検体 (Homogenate) 1g 当りの反応速度恒数 E を以てした。更に Homogenate 1g 当りの総窒素量を求めて、E の値を窒素 1 mg 当りの値に換算して E/N として比較した。

2) 副腎の組織標本

教室の唾液腺の研究に用いた健康な犬をチクロパンソーダにて麻醉し、その副腎を剔出して、直ちにこれを 10% ホルマリン溶液中に入れて固定した。又蛙も教室にて飼育せる食用蛙を断頭して屠殺し、直ちにこれをホルマリン固定を行った。そしてヘマトキシリンエオジン染色を行い検鏡した。又その組織像はオリンパス製顕微鏡用光源を用い、エクタクロームを使用し倍率 45 倍で撮影した。

III. 実験成績及び考按

1) 腎臓の Glutaminase 及び Carbonic Anhydrase 活性の比較

以上の 2 つの酵素含有量を犬、蛙及び鼠に就いて比較した成績は第 1 表に一括して表示した。表の以下の数値は標準偏差であるが、可成り大きい固体差のある事が分かる。先づ Gluta-

Table 1. Glutaminase and carbonic anhydrase content in kidney of dog, frog & rat.

	Dog		Frog		Rat	
	Kidney weight 37 - 52g		Kidney weight 0.15 - 0.92g		Kidney weight 1.40 - 2.01g	
	Case nos.	Mean activity (\pm S.D.)	Case nos.	Mean activity (\pm S.D.)	Case nos.	Mean activity (\pm S.D.)
Glutaminase	13	441 \pm 122 $\frac{\mu M}{g/hr}$	11	480 \pm 197 $\frac{\mu M}{g/hr}$	7	994 \pm 133 $\frac{\mu M}{g/hr}$ **
		228 \pm 53 $\frac{\mu M}{g/hr}$		196 \pm 54 $\frac{\mu M}{g/hr}$		400 \pm 8.1 $\frac{\mu M}{g/hr}$ **
		288 \pm 078 $\frac{\mu M}{g/hr}$		136 \pm 057 $\frac{\mu M}{g/hr}$		977 \pm 179 $\frac{\mu M}{g/hr}$ **
Carbonic anhydrase	10	1,007 \pm 0155 $\frac{E}{g}$	9	0,996 \pm 0087 $\frac{E}{g}$	1) B.W. is the body weight in grams. 2) ** means statistical significant difference as compared with dogs value.	
		0,0524 \pm 0,0105 $\frac{E}{N}$		0,0523 \pm 0,0079 $\frac{E}{N}$		
		0,0066 \pm 0,0010 $\frac{E}{B.W.}$		0,0028 \pm 0,0003 $\frac{E}{B.W.}$		

Table 2.

Comparison of urinary excretion and concentration of ammonia among various animals.

Animals	Dog	Frog	Rat
Nos. of animals	11	18	9
Body weight (kg)	6.3 - 11.5	0.15 - 0.31	0.19 - 0.24
Urine volume (\pm S.D.) ($cc/kg/Day$)	48 \pm 8	256 \pm 86	25 \pm 7
Ammonia excretion (\pm S.D.) ($mEq/kg/Day$)	1.79 \pm 0.85	0.97 \pm 0.3	1.80 \pm 0.70
Ammonia concentration (\pm S.D.) (mEq/L)	366 \pm 14.9	4.0 \pm 1.5	71.3 \pm 22.0

minase についてその平均値を犬と蛙の間にて比較するに両者の間に有意差を認めない。一方鼠に於いては Glutaminase 活性は Rector の成績⁴⁾と一致しているが、この値を犬と比較すると、その約 2 倍量に相当し、この差は推計学的に 1% の危険率を以て有意である。

第 1 報に述べた如く 25°C にて飼育せる蛙の腎臓からのアンモニア塩としての酸根排泄は犬と略同程度に現われるが、この事は上記の成績とよく符合している。所が低温時に於いて飼育せる蛙の腎臓よりの酸根排泄は少く、且酸を負荷しても容易に排泄されなかったが、これは低温時に於いては Glutaminase 活性が著しく低下する為であろう。

次にこの値に各動物の腎重量を乗じて、これ

を単位体重当りの値に換算して見ると表記の如く、犬の値は蛙の値の2倍にも相当する。又鼠については犬の約3倍以上の値を示す。

今此等の動物について尿中へのアンモニア排泄量を比較するに、第2表に示した如く、尿中アンモニア濃度については、鼠尿が高く犬の約2倍に達し、又蛙尿については犬の約1/10にすぎない。従って先の腎臓 Glutaminase 活性の動物差と一見よく一致しているから、これと関係ありそうにも見える。併し体重当りの1日アンモニア排泄総量に直して見ると、犬と鼠とでは大差なく、蛙のみはその約1/2である。従ってこのようなアンモニア排泄量の動物差を Glutaminase 活性の差のみにて比較する事は非常に問題である。第1にアンモニア濃度については、鼠の尿量が犬の約1/2であり、蛙は犬の約5倍である事に着目す可きであって、主としてその影響であろう。

又 Glutaminase 活性値が必ずしも1日のアンモニア排泄量と平行しない事を見ると、むしろアンモニア排泄量はその動物の摂取する食物や蛋白代謝のレベルに依って、定まる事であって、腎臓の Glutaminase 活性は正常状態に於けるアンモニア生成に應ずるには充分な値をもっていると考えた方がよい。従ってこれがアンモニア生成量と平行しないのは当然である。併しながら酸の負荷量が増加してアンモニア生成が増加した場合にアンモニアを最大に作り得る極限值を求めるならば、それは当然 Glutaminase 活性値と関係をもってくると思われる。酸負荷時の尿アンモニア排泄量に関しては第1報に述べた如く、25°Cにて飼育せる蛙にあっては、

著者の実験せる範囲の酸負荷 (3.0 mM/kg 以下) に於いて、犬と同様に負荷酸を主としてアンモニア塩として排泄する事が出来る。今この場合の1日の最大アンモニア排泄量を犬と蛙にて比較すると、第3表の如くなる。ここに見る如く略同一の負荷酸量に於いて犬の方がややアンモニア排泄量が多い傾向がある。もっとも更に酸負荷量を大きくした場合にはどうなるかは実験例が少い為、ここに断言は出来ないが、少くも現在手許にある材料について云うならば最大アンモニア生成量は Glutaminase 活性量に関する所が大きいと考えても良さそうである。併しながら前記の如く著者の実験せる範囲にあっては、負荷酸根を排泄し尽す日数には大差がないのであるから、この程度の負荷酸量にあっては、腎臓の Glutaminase 活性の差の影響は現われないのであって、蛙の腎臓でも犬と同程度のアンモニア塩排泄が可能と見て良い。まして負荷酸量の少い正常時の腎臓のアンモニア排泄に対しては腎 Glutaminase はむしろ過剰に存在すると考えてよく、その種族差の影響は到底尿のアンモニア排泄に現われる筈がない。

鼠の場合には Glutaminase 活性は体重当りにして犬の約3倍以上も高いが、この場合にも酸負荷量が多い時にその効果が現われて来るのであろう。従って鼠は恐らく酸負荷に対して抵抗性が高い事が予想せられる。

次にC.A.の活性を犬と蛙につき比較するに、両者の間に差を見ない事は前述の Glutaminase の場合と同様である。

所で蛙に於いては既に第1報で述べた如く、犬のように酸注入後に尿の pH が低下するのではなく、その pH 低下度は軽度である。例えば犬に於いては尿 pH が最低 4.9 に達するのに対し、蛙では著者の行える実験例中では pH 6.5 が最低である。然も C.A. の活性は蛙腎は犬腎と同程度であり、体重当りに換算すると犬の約43%に相当する。併しこの差が直ちに今回の実験に於ける酸性尿生成の不全に影響したかどうかは非常に問題であって、蛙の場合には同一の酸負荷量 (3-4 mM/kg) に対

Table 3.

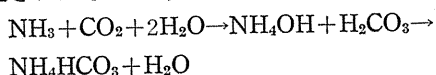
Maximum excretion of urinary ammonia after acid load.

Dog				Frog			
No.	Acid load (mEq/kg)	Maximum excretion mEq/kg/Day	Days after load	No.	Acid load (mEq/kg)	Maximum excretion mEq/kg/Day	Days after load
A ₁	2.63	3.28	2	27	2.00	2.69	2
C	3.04	5.46	2	72	2.40	2.65	2
T	3.64	3.41	2	29	3.00	2.37	3
C	4.27	4.71	1	71	3.00	2.15	3

し全然酸性尿を作らないものも、若干酸性尿を作るもの等々である。これは C.A. 活性の固体差をもっては説明し難い。一方犬にあっては正常時より酸性尿を呈するものが多いのである。従って犬と蛙の酸性尿生成の種族差の原因は尿細管細胞内の C.A. の量的差ではなく、細胞内の H^+ が尿細管細胞より分泌される過程に犬と蛙との大きい差があると考えた方が良さそうである。この過程とは Pitts¹⁾ 等によれば H^+ と Na^+ との交換過程に外ならないのである。

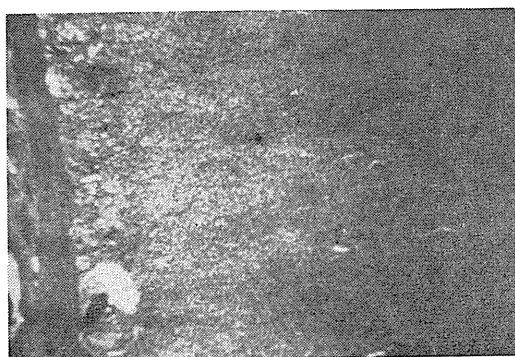
一方上記の如く、犬と蛙とでは尿へのアンモニア排泄には差がないと述べたが、それはアンモニア排泄量の比較の問題であって、排泄されるアンモニア塩の形は犬尿とは全然異なる事は第1報に述べた通りである。即ち犬にあっては NH_4Cl の形となって分泌せられ、且この分泌は杉本⁶⁾、Rector 等³⁾⁴⁾ によれば尿細管細胞内 NH_4^+ と尿の $NaCl$ の Na^+ との交換によると云う。

然るに蛙にあっては、アンモニアは NH_4HCO_3 の形で分泌せられる事は前報¹⁾ に述べた所である。Pitts 等によれば尿細管細胞内の NH_3 は拡散によって分泌され得ると云うから恐らく、蛙の場合は尿細管細胞中のアンモニアは拡散によって分泌されたものが、次の反応にて尿中に固定されたものと考えられるのである。



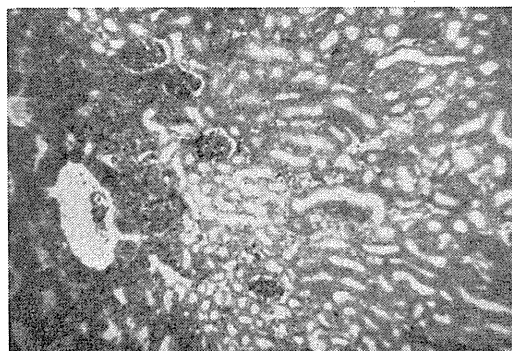
従ってこのアンモニア分泌に関しても、蛙の尿細管細胞にイオン交換過程が行われていないと考う可き根拠が存在するのである。

藤本⁶⁾、杉本等⁷⁾ によればこのような尿細管細胞のイオン交換には副腎皮質ホルモンが関係し、これは Na^+ と NH_4^+ 又は Na^+ と H^+ との交換を促進する。而して彼等の行える犬実験に於いては、副腎剔除犬の腎臓の Glutaminase 及び C.A. 含有量は正常犬のそれと大差を認めないが、尿中に排泄されるアンモニア量は低下し、酸性尿生成が減退する。従ってこの犬と蛙のイオン交換過程の差異としては、第1に尿細管細胞自身の機能的な差によるか何れかである



Phot. 1.

Photomicrograph of adrenal cortex of dog. $\times 45$



Phot. 2.

Photomicrograph of adrenal gland of frog. $\times 45$

うと考えられるのである。

そこで著者はこの点を明らかにしたいと考え、次の如く犬と蛙について副腎皮質の組織学的な比較を行って見た。

2) 副腎皮質組織の比較

犬及蛙の副腎の組織像を見ると、犬副腎は写真1にしめすごとく、Zona glomerulosa, Zona fasciculata 及び Zona reticularis の3層に明確に分れているが、蛙の副腎は写真2に見る如く、3層形成は判然としていない。尙皮質と髓質の区別も明らかでない。蛙の副腎にはアドレナリンを分泌するクローム親和細胞、リポイド細胞、神経節細胞の外に、夏に多く冬に少い好酸性の顆粒を充した所謂夏細胞¹²⁾がある。この標本に於いても夏の蛙である故に、比較的多くの夏細胞がリポイド細胞の間に存在する。この様な副腎の組織像より考察するに、蛙ではその

進化の程度は未だ不完全であって、副腎皮質ホルモン、殊に Mineral Corticoid の分泌が犬と同様に現われるかどうかは甚だ問題と云わねばならぬ。故に Mineal Corticoid による H^+ と Na^+ 又は Na^+ と NH_4^+ との交換機転も著明ではないと考えられ、これが塩化アンモニアの生成や酸性尿生成の不完全をもたらした第1の理由であろうと思われる。

併し果して Mineral Corticoid の分泌が起らないかどうか、又問題は果して副腎皮質ホルモン作用の差によって、説明す可きであるかどうかは将来の研究問題でなければならぬ。即ち仮りに Mineral Corticoid が働いたとしても、尿細管細胞自体の機能が蛙にては未分化であって、イオン交換を行い得ない時には、それ丈で酸性尿や NH_4Cl の生成は現われ難い理である。

IV. 総 括

蛙、犬及び鼠について、その腎臓の Glutaminase 及び C.A. 活性を比較測定し、又副腎皮質を組織学的に検鏡して、腎臓に於けるアンモニア及び酸性尿生成の動物差の原因につき考察した。その成績の大要は次の如くである。

1) Glutaminase 含有量は腎臓 1g 当りには、犬および蛙の間には差を認めない。この成績は酸負荷時 25°C で飼育した蛙のアンモニア塩としての酸の排泄は犬と大差ない事を裏附ける。ただし低温時にアンモニア塩の排泄が減ずるのは、低温の為に Glutaminase 活性が低下を来す為である。

2) 腎臓 Glutaminase 活性を単位体重当りに換算すると、蛙<犬<鼠の順序におおく、1日当りのアンモニア排泄量から見ると、必ずしも Glutaminase 含有量とは関係しない。従ってこのアンモニア排泄量は夫々動物の生活条件と代

謝によって定まるのであろう。

3) C.A. 含有量は蛙および犬の間に Glutaminase と同じく、組織重量当りの値に於いては差は見られない。故に酸性尿生成機転が蛙に於いて軽度であるのは尿細管細胞の H^+ 分泌機転に差があるのであろう。

4) 蛙の副腎皮質には犬のそれに見る如き3層分化がなく、犬に比して未分化であると思われる。故に蛙にあっては Mineral Corticoid による尿細管細胞の H^+-Na^+ 交換過程に対する促進作用は現われない事が想像せられる。蛙に於いては酸性尿生成が著明でなく、且アンモニアは Na^+ と交換せられない為に NH_4HCO_3 として分泌せられ、犬の様に NH_4Cl として分泌されないのであるが、これが副腎皮質作用の欠除によるかどうかは将来の研究を要する。

擧筆するに当り、恩師吉村教授の終始御懇切な御指導と御校閲に心から感謝致します。

尚本研究に御協力を戴いた本学野田教室大塚助手に謝意を表します。

文 献

- 1) 箭田正輝(1961)日本生理誌 **23**, 22
- 2) Pitts, R. F. (1945) Science, **102**, 49
- 3) Rector, F. C., JR. W. Donald. Seldin, J. H. Copenhaver (1955) J. Clin. Invest. **34**, 20
- 4) Rector, F. C., JR. W. Donald. Seldin, J. H. Copenhaver (1954) Am. J. Physiol. **179**, 353
- 5) Goldstein, L., R. Richterich & E. H. Dearborn (1956) Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **93**, 284
- 6) 藤本 守;(日本生理誌に掲載の予定)
- 7) 杉本順一;(日本生理誌に掲載の予定)
- 8) 藤井暢三(1956)生化学実験法 定量篇(南山堂)
- 9) Altschule, M. D., and H. D. Lewis (1949) J. Biol. Chem. **180**, 557
- 10) 岩崎隼太(1957)日本生理誌 **19**, 1234
- 11) Pitts, R. F. (1948) Federation Proc. **7**, 418
- 12) 市川 衛(1954)蛙学(裳華房版)

蛙の尿 P_{CO_2} と血液 P_{CO_2} の関係に就いて 612.019.76:612.127.3:612.461.267

Studies on carbon-dioxide tension of serum in frog

吉村 寿人・箭田 正輝・湯 浅 実・桑 田 努
(YOSHIMURA-Hisato • YATA-Masateru • YUASA-Minoru • KUWADA-Tutomu)*

The authors studied the normal blood and urine of the frog for factors controlling the acid-base balance, and behaviors of the pulmonary and cutaneous respiration as well as the variation in the acid-base balance related to the urine with the loading with high CO_2 tension.

The results may be summarized as follows;

1) The normal blood of the frog has its pH at 7.4-7.6; pH of the urine is about neutral. However, the urine has its P_{CO_2} always below the P_{CO_2} of the blood by about 10 mmHg. Bicarbonate is excreted in urine in the form of NH_4HCO_3 , i. e., together with NH_3 ; pH of the urine is determined by the concentration of NH_4HCO_3 , the higher its concentration, the higher the pH.

2) When the frog is surrounded by the air, the cutaneous respiration is nearly as important as the pulmonary respiration; concerning CO_2 , the excretion of CO_2 depends on the cutaneous respiration to a greater extent than on the pulmonary respiration. When the frog is in water, its cutaneous respiration is markedly suppressed. Under this circumstance the trans-cutaneous exchange of gases depends mainly on the physical process, i. e., diffusion.

3) When the frog is subjected to a high CO_2 tension, it may be assumed that the frog is in the state of a respiratory acidosis. Nevertheless, the urine has its pH not appreciably lowered and its P_{CO_2} elevated only slightly and up to a level lower than blood P_{CO_2} .

While there is an increased excretion of $NaHCO_3$, there was no observed low P_{CO_2} of urine in frog is not due to the excretion CO_2 by the cutaneous route.

4) With the calculation of free CO_2 in urine, an inverse correlation was found between the concentration of free CO_2 in urine and the total concentration of NH_3 .

With this observation and another observation that the pH of urine was increased along with an increase in ammonia, it was concluded that the ammonia diffused out the tubular cells and acted with the free CO_2 in the glomerular filtrate in the lumen of tubules, with the resultant formation of NH_4HCO_3 .

The authors are of opinion that this mechanism is main cause of the observed low P_{CO_2} in urine of the frog.

I. 緒 論

先に吉村等¹⁾は蛙の尿の P_{CO_2} が血清のそれよりも常に低い事実を明かにし、これは腎臓の細尿管に於いてアンモニアが拡散により分泌せられ、その遊離炭酸を NH_4HCO_3 の形にて結合する為であると説明した。

然るに蛙は古くよりその皮膚は CO_2 を排泄する能力を有する事が知られ、Krogh²⁾は蛙の皮膚は CO_2 の排泄に対しては、むしろ肺臓よりも重要な役割を果たすと述べ、この CO_2 の

排泄は拡散によるものであると説明した。従って尿が腎に於いて作られて膀胱に蓄えられている間に皮膚からの CO_2 排泄の影響により膀胱より CO_2 が脱出し、尿の P_{CO_2} の低下を引起す可能性も考えられる。そこで著者等は果して尿 P_{CO_2} の低下の原因が尿アンモニアによる結合のみによって説明し得るか、皮膚呼吸によるものであるかを明かにせんとして本研究を行った。

II. 実験方法

実験を次の3つの段階に分って行った。実験動物としては食用蛙及びトノサマ蛙を用いて、果して吉村等の言う様に血清 P_{CO_2} と尿の P_{CO_2}

* 京都府立医科大学第1生理学教室(吉村寿人教授)
1st Dept. of Physiol., Kyoto Prefectural Univ. of Med.
〔昭和35年10月3日受付〕

の間に差があるのか否かを明かにする事より始めた。又この際に尿組成を分析してその pH, 総炭酸濃度及びアンモニア濃度を定量し、それ等と尿 P_{CO_2} との相互関係を調べた。

次にトノサマ蛙を用いて皮膚及び肺呼吸を同時に測定し、両者がどのような割合でガス代謝を営み、又如何なる条件によって変化するかを検討した。

最後にトノサマ蛙を高い CO_2 濃度の空气中に飼育して皮膚及び肺臓よりの CO_2 脱出を防いだ場合に果して血清 P_{CO_2} と尿 P_{CO_2} の差が消失するや否やを検討した。

1) 血液及び尿を採取する方法は既に箭田³⁾が述べた如くであって、血液は採血後直ちに血清を遠心分離し、その血清について pH, 総 CO_2 濃度を測定した。尿について pH, 総 CO_2 濃度、アンモニア濃度、 P_{CO_2} を測定した。

測定方法としては血清 pH は吉村式注射器型

微量ガラス電極⁴⁾を用い $25^\circ C$ にて測定した。総 CO_2 濃度は斎藤式微量ガス分析法⁵⁾によって測定した。又 pH 及び総 CO_2 濃度から血清 P_{CO_2} を算出するには、Bunsen 吸収率 $\alpha=0.744$, $P_{K'}=6.30$ を用い、Henderson-Hasselbalch 式を利用して算出した。但し $P_{K'}$ の値は $P_{K'}=6.46-0.5\sqrt{\mu}$ を以て計算し、イオン強度 μ は氷点降下度を実測する事により求めた。

又尿の測定項目としては、尿量, pH, 総 CO_2 濃度及び NH_3 であって、その内 pH と総 CO_2 濃度に関しては血清と同様の方法によった。計算より尿 P_{CO_2} を求める場合には血清と同様に Henderson-Hasselbalch 式を用いて、Bunsen 吸収率 $\alpha=0.759$ を使って $P_{K'}$ を実測値の μ より求めた。イオン強度 μ は尿中の Na, K, Cl, HCO_3 , HPO_4 の濃度より計算した。

尚尿について P_{CO_2} の実測を行い、計算値と比較したのであるが、実測方法としては Raughton-Scholander Syringe を用いて $25^\circ C$ にて測定した。その方法は文献⁶⁾に詳しいから参照されたい。またアンモニアは Conway の超微量拡散法⁷⁾によった。

2) 呼吸ガス代謝測定法として、肺呼吸と皮膚呼吸とに分ち測定せんと試みたのであるが、測定装置としては箭田の呼吸ガス代謝測定装置³⁾を利用して、これに改良を加え肺呼吸及び皮膚呼吸を同時に別々に測定した。

即ちその装置としては第 1 図の如く、蛙を小瓶に入れてこれを瓶口のゴム栓に吊し、その口裂の直下に於いて薄いゴム膜にて瓶腔を上下に分つ。c 及び c' よりポンプ e 及び e' にて採気瓶中の 5% 硫酸を吸引する事により外気が b, b' より夫々 a, a' 内に入り夫々肺呼吸、皮膚呼

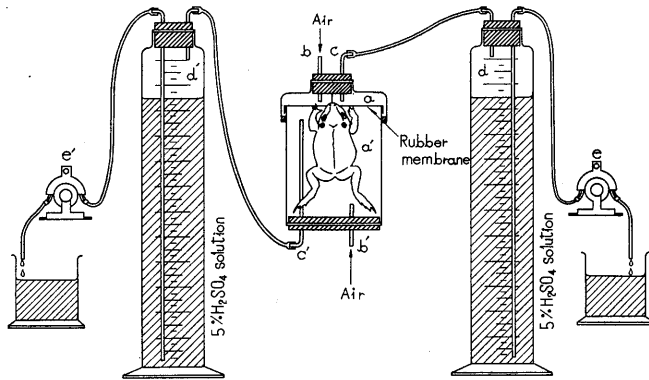


Fig. 1.

Equipment for collection of pulmonary and cutaneous respiratory gas of frog.

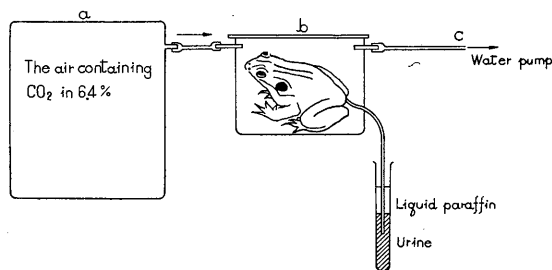


Fig. 2.

Experimental apparatus for CO_2 inhalation into frog.

吸によりガス交換が行われたる後, c, c' を通じて採気瓶 d, d' 中に集められる. そしてそのガスを Scholander 超微量ガス分析器⁸⁾にて分析し, O₂, N₂, CO₂ 濃度を求めた. そしてその濃度に一定時間に採集せるガス量乗じて, a, a' 腔より集められるガス量を求め, これを外気のガス組成とより単位時間内に消費せる O₂ 量及び呼出せる CO₂ 量を求めたのである. 尙 a' に水を満たす事により水中に於ける蛙のガス代謝も測定可能である.

3) 高濃度 CO₂ ガス呼吸実験としては第2図の様な装置を考案し, 常に一定濃度の CO₂ ガスを蛙に呼吸せしめた. 即ち蛙を密閉せる容器 b に入れ, 水流ポンプ c にて b 内の空気を吸引する事により, Gas Bag a 内に貯わえられた CO₂ ガスを多く含んだ空気が b 内に満たされるのである. 尿は総排泄管にビニール管をとりつけて容器の外に導き, 流動パラフィン下に集めた.

III. 実験成績

1) 血清 Pco₂ と尿 Pco₂ に就いて

先ず食用蛙の血液に就いて調べた成績は第1表に示すごとく, 血清 pH は一般に高く, 平均 7.6 であった. 血清総 CO₂ 濃度もやや高く平均 25.5 mM/l であった. 血清 Pco₂ は平均 27 mmHg であるが可成低値の例が存在する.

次に食用蛙の尿に就いての成績が第2表に示されている. 尿 pH は 21-29°C の範囲ならば

Table 1.
pH, Pco₂ and total CO₂ content in frog serum (*Rana catesbeiana* 25°C).

Frog No.	pH	Total CO ₂ mM/l	Pco ₂ mmHg
1	7.78	24.9	18.2
2	7.51	28.0	37.0
3	7.44	25.4	39.0
4	7.80	27.8	19.4
5	7.55	25.3	30.6
6	7.55	25.9	31.4
7	7.61	26.4	28.0
8	7.74	24.1	19.2
9	7.79	27.1	19.3
10	7.73	26.5	21.6
11	7.50	23.4	31.6
Mean (S.D.)	7.64 (±0.13)	25.5 (±14.0)	26.8 (±7.30)

水温による差は大きくなく平均 7.02 の略中性である. 又尿中塩分の主要なるものは, NH₄HCO₃ であって, 尿 HCO₃ 濃度及び NH₃ 濃度は平均値に於いても大体一致した値を示している.

第3図は尿中の HCO₃ 濃度をその総 CO₂ 濃度と pH とにより Henderson-Hasselbalch 式にて計算し, これと総アンモニア濃度との関係を見たものである. 明かにアンモニアと HCO₃ は順相関を示し, 従ってアンモニアは主として

Table 2.
pH, NH₃, HCO₃ content and Pco₂ in frog urine (*Rana catesbeiana*).

Frog No.	Temp °C	pH	NH ₃ mEq/L	HCO ₃ mEq/L	Calculated Pco ₂ (mmHg)	Estimated Pco ₂ (mmHg)
1	29	7.02	3.30	2.46	13.1	15.6
2	27	7.08	3.71	3.38	15.7	—
3	29	7.07	3.18	2.33	11.2	9.5
4	29	7.62	8.77	7.40	10.1	11.2
5	23	7.02	3.81	2.31	12.6	13.7
6	23	7.03	3.28	4.68	24.3	24.0
7	23	7.00	5.28	3.21	18.1	18.5
8	24	6.75	3.69	1.87	18.6	—
9	21	7.20	5.68	4.43	15.6	17.0
10	21	7.10	2.79	2.19	9.8	8.5
11	28	6.81	4.12	2.42	22.0	21.6
12	28	6.98	5.56	2.62	16.0	16.5
13	28	6.80	4.19	2.74	25.5	—
14	28	6.86	5.03	1.91	15.1	18.2
Mean (S.D.)	—	7.02 (±0.24)	4.46 (±1.49)	3.14 (±1.24)	16.3 (±1.52)	15.8 (±1.51)

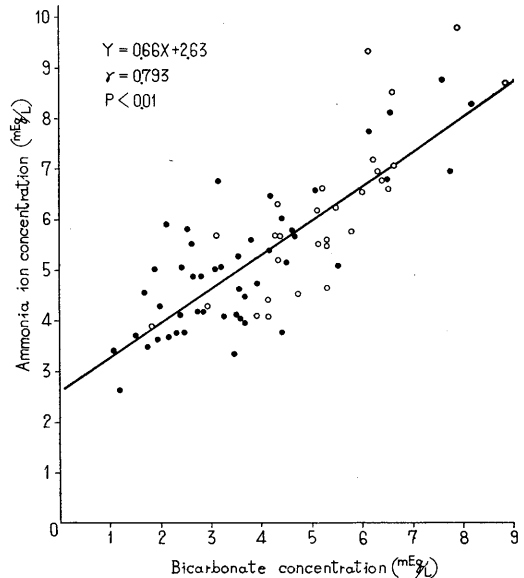


Fig. 3.
Correlation with NH₃ and HCO₃ concentration in frog urine.

Table 3.
pH, P_{CO_2} and total CO_2 content in frog serum
(*Rana limnocharis*), (Water Temp. 28–30°C).

Frog No.	pH	Total CO_2 (mmHg)	P_{CO_2} (mmHg)
1	7.408	11.67	19.20
2	7.345	8.96	16.85
3	7.524	12.95	16.59
4	7.548	11.81	14.33
5	7.439	10.25	15.78
6	7.201	8.51	21.62
7	7.432	16.04	25.07
8	7.474	14.03	20.03
9	7.251	9.49	21.73
10	7.289	13.12	27.80
11	7.355	12.54	23.09
12	7.277	14.15	30.70
Mean (S.D.)	7.379 (±0.106)	11.97 (±2.21)	21.07 (±4.80)

Table 4.
pH, NH_3 , HCO_3^- content and P_{CO_2} in frog urine
(*Rana limnocharis*).

Frog No.	Temp. °C	pH	NH_3 (mEq/L)	HCO_3^- (mEq/L)	Calculated P_{CO_2} (mmHg)	Estimated P_{CO_2} (mmHg)
1	25	7.33	4.67	5.40	12.0	12.0
2	25	7.28	5.50	4.34	10.0	11.2
3	25	7.11	2.70	4.19	14.4	15.0
4	25	7.08	2.11	4.62	16.3	17.3
5	25	7.20	3.01	2.10	8.5	9.0
6	25	7.04	1.72	1.85	11.0	10.5
7	25	6.86	1.85	1.65	12.0	11.2
8	25	7.21	1.65	8.79	22.9	23.5
9	25	6.89	4.02	1.19	6.1	8.6
10	25	7.40	3.11	4.68	17.0	16.0
11	25	7.45	3.57	7.16	25.7	23.7
12	25	7.29	3.03	6.20	17.2	18.6
13	25	7.33	3.78	5.95	16.3	14.8
14	25	7.35	7.39	4.19	19.2	18.9
Mean (S.D.)	—	7.20 (±0.18)	3.44 (±1.54)	4.45 (±2.13)	14.9 (±1.39)	15.0 (±1.53)

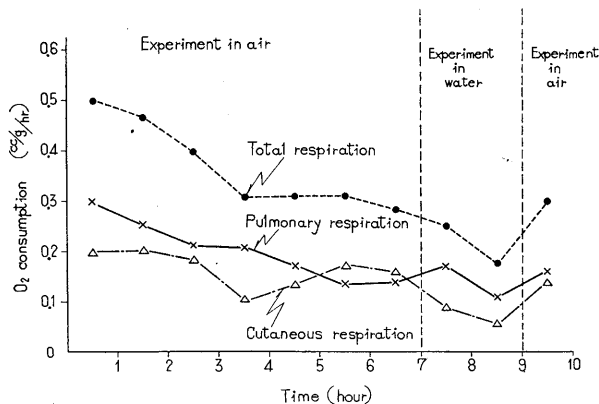


Fig. 4.
 O_2 consumption from skin and lung (*Rana limnocharis*),
(15.5 g, 25°C).

NH_4HCO_3 の形である事は確かである。

次に尿 P_{CO_2} を前記の Henderson-Hasselbalch 式にて計算して見ると第2表に示す如く何れも血清 P_{CO_2} (第1表) よりも低い。元来 P_{CO_2} 計算値は非常に誤差の大きいものであるから、この場合の尿に就いて Roughton-Scholander 氏法によって P_{CO_2} を実測して見た。その結果は表のごとく計算値と実測値はよく一致し、血清 P_{CO_2} よりも約 10 mmHg 程低い事が確認されたのである。

そこでこれと同様の検査をトノサマ蛙の血清と尿について調べたのが第3表及び第4表に示されている。先ず第3表は血清の成績であるがその pH は平均 7.4 であって食用蛙の夫よりもやや低い。又その総 CO_2 濃度も低い。 P_{CO_2} は食用蛙の夫に近い値を示す。又第4表に示す如く、この場合も尿 pH は略中性で平均 pH 7.2 であり、食用蛙の夫によく一致している。又尿の総 CO_2 も NH_3 と共に濃度を高め、その値は食用蛙の夫に略等しい。又尿 P_{CO_2} も食用蛙の夫と同様に非常に低い。従ってトノサマ蛙の場合にもその P_{CO_2} は血清の夫よりも低く、蛙の種類による差は認められないのである。

2) 蛙の呼吸ガス代謝について

後に述べる CO_2 ガス呼吸実験に先立ち、正常トノサマ蛙にて肺呼吸に皮膚呼吸がどの様な割合で営まれ、又水中に於いて如何様に変化するかを調べた。先ず O_2 消費量に関しては第4図に示す如く、空中に於いては皮膚及び肺呼吸は夫々平均に於いて皮膚よりの O_2 吸収 0.151 cc/g/h, 肺よりの O_2 吸収 0.150 cc/g/h であって全 O_2 吸収の約50%が皮膚により行われている。一方水中に於いては平均して皮膚よりの O_2 吸収 0.071 cc/g/h, 肺よりの O_2 吸収 0.142 cc/g/h であって、この場合水に浸したのは皮膚のみであるから皮膚呼吸の抑制が特に著明であるのは当然であろう。但しここで述べる皮膚呼吸とは実際は少し水から出た所の皮膚よりの呼吸が主体を成すものと考えられる。従って全

体の皮膚を水に浸されるともっと呼吸は抑制されると思われる。

CO_2 ガス産生に関しては第5図及び第5表に示す如く O_2 の場合とよく似た成績を示すが皮膚よりの CO_2 排泄は次の平均値に示す如く空中に於いては大体肺呼吸を上廻る。従って R. Q. は第6図及び第5表に示すごとく皮膚は1よりも大きく全体としての平均は1.14である。併し水中に於いては全体としての R. Q. の平均値は0.95である。この様に水中で R. Q. の異なるのは主として CO_2 脱出の影響と思われる、空中では CO_2 は脱出し易くなり、水中にては蓄積が起る傾向があるのである。つまり CO_2 も O_2 も共に水中にては皮膚より出入りし難くなるのであって、これは CO_2 , O_2 の皮膚透過が物理学的な拡散に基く結果であろう。

次に皮膚呼吸の全体に占める割合を一括して示したのが第6図である。図示の如く O_2 消費量と CO_2 産生量は共に空中に於いては全体のガス代謝の40-60%を占め、殊に O_2 , CO_2 排泄に関しては O_2 吸収の場合より以上に皮膚の分担する割合は大きい。又皮膚が水に浸された時は皮膚呼吸が阻害せられるが、それでも CO_2 排泄に関しては全体の50%は皮膚呼吸に依存し、又 O_2 吸収量についても30%は皮膚の働きによる。この様に皮膚が CO_2 排泄に対し O_2 吸収より以上に大きい役割を果たすことは Krogh²⁾も既にみとめている。而して皮膚より O_2 吸収や CO_2 排泄は共に物理的な過程によとせられ、肺呼吸殊にその O_2 吸収は生理的に変動が大きいから、上皮細胞の分泌吸収を考える必要があると述べている。併し著者等の成績では肺呼吸の変動と皮膚呼吸の夫とは大差なく共に物理的過程と血液循環の変動により支配されると考えてさしつかえないと思われ

Table 5. CO_2 output in frog.

Experiment	in air	in water
CO_2 output from skin	0.209	0.082
R. Q.	1.34	1.17
CO_2 output from lung	0.173	0.095
R. Q.	0.93	0.70
Total CO_2 output	0.382	0.177
R. Q.	1.14	0.95

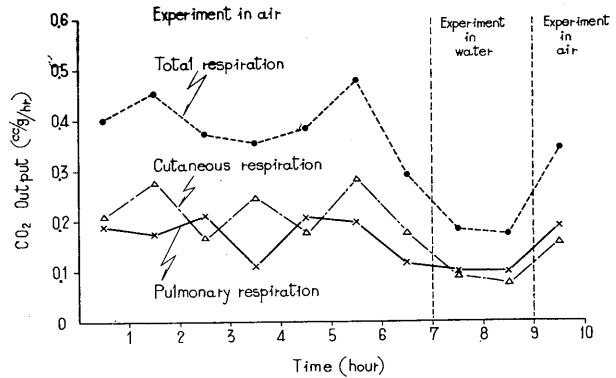


Fig. 5.

CO_2 output from skin and lung (*Rana limnocharis*), (15.5 g, 25°C).

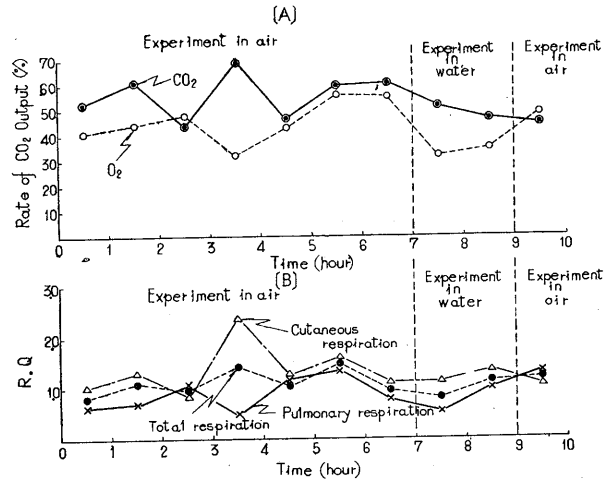


Fig. 6.

Rate of consumption and CO_2 output from skin to total gas exchange (*Rana limnocharis*), (15.5 g, 25°C).

る。

3) 高濃度 CO_2 ガス呼吸実験について

以上の実験より蛙の皮膚からの CO_2 脱出が可成りに大きいものである事が判ったのであるが果して尿 P_{CO_2} が血液の夫より低い原因が皮

膚よりの CO_2 脱出によるものかどうかを追求する為に蛙を高濃度の CO_2 ガス中に置き、これにより CO_2 が肺及び皮膚呼吸により脱出するのを阻害し、その時の尿の変化を調べたのが第7図の1例である。採尿は24時間づつ集めたから図は1日単位で尿性状の変化をしめしている。図の如く尿 pH は高濃度 CO_2 ガス呼吸を行っても正常時と殆んど変化せず、可成り高い値を維持している。尿 P_{CO_2} はこれによって上昇するが予想した程高くならず、しかも先の血液 P_{CO_2} に比して尙低いのである。即ち膀胱から尿の CO_2 が脱出するのを阻害したと考えられるにも拘らず血液 P_{CO_2} より高くないのである。次にこの際の尿 HCO_3^- 濃度やその排泄量をみるに、 CO_2 ガス呼吸によってこれが Na 排泄量と共に増加して来るのである。即ち $NaHCO_3$ の排泄量が増加している事がわかる。一方 NH_3 は殆んど変化せず、その他のイオンも余り変化していない。これは温血動物、殊に犬の場合とは著しく異なるのであって、犬の場合

には CO_2 吸入（呼吸性アシドーシス）の場合には尿への $NaHCO_3$ 排泄量が減じて pH が酸性になり又 NH_3 濃度も増加する筈である⁹⁾。

この事は蛙にあっては Acidosis に際する腎尿細管の Na^+ と H^+ の交換促進による酸性尿生成能が未発達であると言う箭田³⁾の主張を支持する成績である。この様な成績は他の3例に於いても同様の結果であった。

IV. 考 按

以上述べた如く食用蛙及びトノサマ蛙に就いて正常の血液や尿の酸塩基平衡の状況を調べた結果、尿の P_{CO_2} は常に血清の P_{CO_2} よりも顯著に低い事が判った。この原因として先ず皮膚よりの CO_2 脱出を考えて見たが高濃度の CO_2 ガス中に蛙をおいて肺及び皮膚呼吸からの CO_2 脱出を阻害した場合に就いても、依然として尿 P_{CO_2} の低い事は完全に改める事は出来なかった。併しよく考えると尿より CO_2 が脱出すると考えるにはその脱出の道は膀胱より皮膚を経た経路が最も考え易い。併し皮膚を通過する際には組織液従って血液の P_{CO_2} と平衡した上で CO_2 脱出が起る筈である。従って皮膚呼吸により CO_2 脱出があったとしてもそれは血液の P_{CO_2} の低い事を説明するに役立つが、尿が血液より CO_2 分圧を低下する理由は説明出来ない。つまり膀胱中の尿は P_{CO_2} の高い血液に包まれながら然もその P_{CO_2} を減少するのである。この様に考えて来ると尿 P_{CO_2} の低い理由はむしろ腎臓や膀胱内部での出来事であると思われる。そこで尿生成過程の間に於いて何か原因がないかと考えて見る。

先の実験に明かな如く、尿中の炭酸は主としてアンモニアと結合して NH_4HCO_3 の形で排泄せられる。これが如何なる過程によるかを考えて見るに、2つの機転を考える事が出来る。

第1は Coulson and Hernandez が $\alpha = 10$ に就いて証明した様に NH_4HCO_3 が尿細管細胞より分泌により出される事である。第2は Pitts 等に従ってアンモニアが拡散により尿細管細胞より游出し、これが尿中の炭酸と反応して

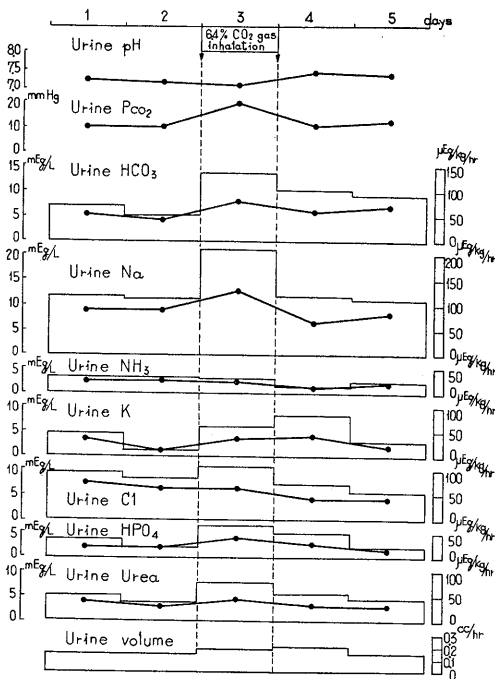
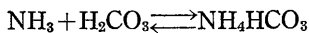


Fig. 7.

Effect of 6.4% CO_2 gas inhalation on acid-base balance of urine (*Rana limnocharis*), (11.0 g, 25°C).



となると考えることである。

第1の考えに従えば CO_2 吸入によって尿細管細胞内の CO_2 供給を高める時は当然 NH_4HCO_3 の細胞内生成を増して尿中濃度を高める筈である。併し実験の結果は尿中に $NaHCO_3$ の増加がみとめられたが、 NH_4HCO_3 の増加はなかった。従ってこの場合の尿の HCO_3^- はむしろ呼吸性アシドーシスに基く血液中の $NaHCO_3$ 増加に基きその濾出量が増し且先に説明した様に逆吸収量の増加が起らなかったと考えた方が良い。

又 Coulson 等はワニ¹¹⁾にあっては Diamox によって NH_4HCO_3 の分泌が減少した事を報告したが、吉村等¹⁾は蛙にては Diamox は $NaHCO_3$ の排泄を増し NH_3 の増加を来す事はないと述べている。従って此等の成績は何れも蛙の尿中の HCO_3^- が細尿管細胞に由来したものでない事を支持する。然らば第2の学説についてはどうであろうか。この場合 NH_3 は細尿管細胞より拡散して来り、これが血管球濾液中の遊離 CO_2 をとられるのであるから、尿の P_{CO_2} は NH_3 が多い程低くなって来る筈である。そこでこれをいろいろの尿に就いてプロットしてみると第8図が得られる。図の黒丸は正常蛙、白丸は酸注入実験(箭田³⁾)に用いた蛙の成績である。図示の如く明かに遊離 CO_2 濃度はアンモニア濃度が増すにつれて減少している。而して遊離 CO_2 濃度よりもアンモニア濃度の方が圧倒的に多いから尿中の NH_4HCO_3 は尿細管細胞内より出た NH_3 が CO_2 をとられた結果生じたものと考えて一向に不思議ではない。その様に考えるならば尿の pH はアンモニアが増す程、それによる酸中和の為に上昇してよい筈であるがこれは事実である(第9図)。而して箭田が明かにした様に尿の pH は事実上 NH_4HCO_3 濃度により定まり、その濃度が上昇すれば純粋の NH_4HCO_3 の溶液の pH 7.8 に近づいて行くのである。

この事実は犬の場合と全く反対である事に注目す可きである。それは犬ではアンモニアの分泌は $NaCl$ の Na^+ との交換によるものであ

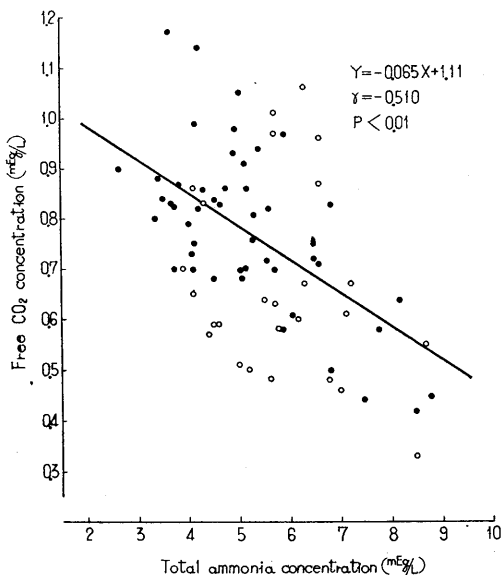


Fig. 8.
Correlation with free CO_2 and NH_3 concentration in frog urine (*Rana catesbeiana*).

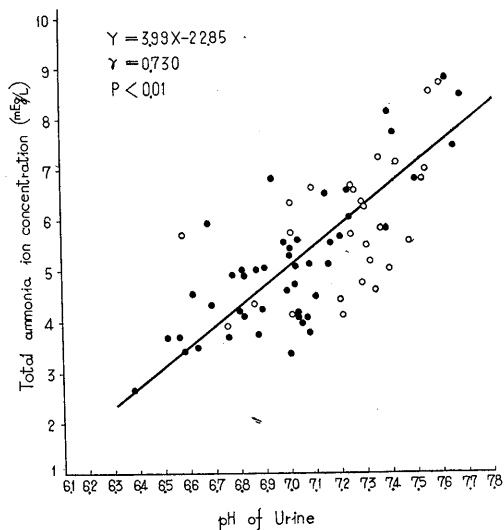


Fig. 9.
Correlation with NH_3 concentration and pH in frog urine (*Rana catesbeiana*).

て NH_4Cl の生成を来し、蛙の場合と全く異なるものと考えられる。

以上要するに蛙の尿 P_{CO_2} の低い原因は蛙に特有である皮膚呼吸による CO_2 脱出が原因す

るのではなく、細尿管細胞中に生じた NH_3 が拡散により血管球濾液中の遊離 CO_2 をとられて、 NH_4HCO_3 となし、その遊離 CO_2 濃度を減少する為である。その為に尿 pH も高くなり、炭酸は主として NH_4HCO_3 の形にて排泄せられる事になるのであろう。

V. 総括

以上著者等は蛙について正常血液や尿の酸塩基平衡の状況や、肺及び皮膚呼吸の状況、又高濃度 CO_2 ガス呼吸時の尿の酸塩基平衡の変化等について調べた結果次の成績を得た。

1) 蛙の正常血液 pH は 7.4-7.6 であって、尿 pH は略中性である。然も尿の P_{CO_2} は常に血液の夫よりも約 10 mmHg 程低い。又尿中 HCO_3 は NH_3 と共に主として NH_4HCO_3 の形で排泄され、尿 pH は NH_4HCO_3 の濃度により定まり、濃度上昇に伴い pH も高くなる。

2) 蛙の肺呼吸と皮膚呼吸との関係は空中に於いては略同程度に行なわれ、 CO_2 排泄はむしろ肺呼吸よりも皮膚呼吸に依存する所が大きい。又水中にあっては皮膚呼吸は著明に抑制される。従って皮膚よりのガス交換は物理的な拡散過程に基く所が大きい。

3) 蛙に高濃度 CO_2 ガスを呼吸させた場合に蛙は呼吸性アシドーシスを惹起していると思われるにも拘らず、尿 pH は低下せず、 P_{CO_2} は僅

かに上昇するが、血液の夫よりも依然として低い。又 $NaHCO_3$ の排泄が増加するが、 NH_3 の増加は見られなかった。この事から尿 P_{CO_2} が低い原因は皮膚による CO_2 排泄によるものでない事が明かになった。

4) 尿中の遊離 CO_2 濃度を算出し、これと NH_3 総濃度との間には逆相関があること、又尿 pH はアンモニアの増加に伴い NH_4HCO_3 濃度を増して上昇して行く事より、蛙にあってはアンモニアは細尿管細胞内より拡散により、その管腔に入り血管球濾液の遊離 CO_2 と結合して NH_4HCO_3 を生ずると考えた。そしてこれが尿の P_{CO_2} を減ずる主因であると結論した。

文 献

- 1) 吉村寿人・他 (1961) Jap. J. Physiol. **11**, 予定
- 2) August, Krogh (1903) Skandin. Archiv. **15**, 328
- 3) 箭田正輝 (1961) 日本生理誌 **23**, 22
- 4) 吉村寿人 (1948) pH の理論及び測定法 (丸善版)
- 5) 斎藤幸一郎 (1937) 日本生理誌 **2**, 213
- 6) Scholander, P. F. et al. (1943) Science, **95**, 177
- 7) Conway, E. J. (1950) Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, London.
- 8) 笹本 浩・他 (1953) 呼吸と循環 **1**, 115
- 9) 吉村寿人・奥村 修・他 (1958) 日本生理誌 **20**, 988
- 10) Coulson, R. A. and T. Hernandez (1955) Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. **88**, 682
- 11) Hernandez, T. and R. A. Coulson (1957) Am. J. Physiol. **188**, 485

カフェインの中樞運動系に対する作用並びに其の機制に就いて 612. 823. 5

Convulsive action of caffeine introduced into C. S. F. of dogs

関 園 子 (SEKI-Sonoko)*

When an appropriate dose of caffeine was introduced into c. s. f. of dogs, generalised seizure occurred.

- 1) The critical dose (to 10 kg dog) for the producing seizure was 4.0 ml of 0.2 M solution.
- 2) The latent period of producing seizure was 25-40 min. This denoted that caffeine produced seizure by its indirect action.
- 3) Caffeine under critical dose for seizure summated with Vitamine B₁ which was also under the critical dose in c. s. f. of dogs. But caffeine did not summate with INAH, on the contrary, it inhibited the INAH seizure.

From these results, the author discussed that the action of caffeine to the motor system of central nervous system of dogs, must be in promoting the genesis of the excitatory transmitter as well as of the inhibitory transmitter, and it produced seizure when the former surpassed the latter.

1. 緒 論

パフプロフ並びに其の学派は条件反射学の研究に依り犬の中樞神経の機能を研究し、外からあたえる物質の影響が最もよく表われる物質として3つを挙げている⁹⁾。

第1はホルモンの過剰又は減弱、此れはいつでも犬の神経症を発生せしめる方法としてあとで用いられた。

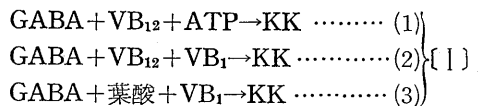
第2は抑制過程を除く物質としてカフェイン作用が挙げられている。

第3は抑制過程を生ぜしめるものとして、臭剤(ブローム剤)が存在する事が注目せられた。

その後、中樞神経の陽性過程、陰性過程に関しては、ヒロボン、グルタミン酸ナトリウム等があげられたが、カフェインが如何なる機制に依って陽性過程を起す物質として働らくかと言う問題については、いままで研究の手掛りが無かった。ところがその後陽性並びに陰性両過程に於ける化学的伝達物質が解明されるようになり、しかも其の両化学物質の母質となる物がγ-amino 酪酸 (GABA) である事が明らかに成った。即ちグルタミン酸は高等動物の脳髓内に

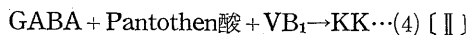
遊離の状態に存在する最も多いもので、約0.2%に及んでいる。この物質が脱炭酸せられて生じて来る γ-amino 酪酸も又遊離の状態として中樞神経内に凡そ0.03%に及ぶと言う事が解明せられて来た²⁾³⁾⁸⁾。

この γ-amino 酪酸 (GABA) を母体として一方に VB₁₂ 又は葉酸等のごとき補酵素と、ATP に依るエネルギー供与とが与えらると陽性伝達物質が生成せられること、即ち此れ等を式述すると次の如く、I 及 II 式となる。I の(1)反応の際の ATP は、I の(2)反応で VB₁ に依て代理せられることが解った¹⁰⁾。



尙、この外に近時この上記 I 反応とは別に次式のあることが発見せられた⁷⁾。

即ち、



さて然らば他方陰性化伝達物質が生ずる過程は如何にと云うに次式の如く、やはり GABA が母体となり此れがベーター酸化せられて生ずると考えられるもの、即ちγ-amino β-hydroxy 酪酸 (GABOB) である。これを式述してみると

即ち、



* 日本大学歯学部生理学教室
Dept. of Physiol., Nihon Univ. School of Dentistry
〔昭和35年10月20日受付〕

此の際Ⅲ式の VB₆ を阻害する物質を与えた場合に於ては、陰性化学物質は全く生成しなくなり、その様な物質を投与すると、20分から30分の潜時を以て興奮、即ち強い痙攣(KK)が発来する事が解って来た¹⁾⁴⁾¹¹⁾。その物質は、OMP, INAH, そして又*d*-Tubocurarineの如きものでいづれも抗 B₆ 物質である。此を第1表に示す。

著者は此等中枢神経に於ける陽性並びに陰性過程生成機制を基礎として、カフェインが如何なる機制に依り中枢神経の興奮を高めるかと言う事が解明出来ると云う推論のもとに本研究を志したのである。

第1表

化学物質	痙攣潜刺戟時間
Metrazol	10-30秒
Picrotoxin	5-10秒
Nicotine	8-30秒
Sodium glutamate	5-10秒
INAH	45-51分
OMP	15-93分
VB ₁	13-20分
Folic acid	20-25分

Ⅱ. 実験方法

1) 動物実験の方法

著者が本研究に用いた実験動物は凡て雑種犬を用い、雌雄を問わず10 kg前後のものをあてた。次に此等動物の固定方法であるが全て当教室動物手術室に於ける特殊固定台に固定した。其処で固定が完了したならば頭頂部矢状切開を施し、正中骨縫合線上より約2-3 mm外側部位の頭蓋骨にドリルにて穿孔せしめ特殊穿刺針を20-25 mmまで矢状線に平行に挿入する。尙此の際針尖部が穿刺同側の側脳室内に入る。穿刺が済んだならば内部のマンドリンを抜く、もし此の場合針尖が完全に脳室内に挿入せられていれば髄液が噴出するから従って此れを確認の標示とした。そこでここより試薬を注入することにした。なおこれと同様な目的にかなう方法として小脳延髄槽内即ち後頭結節より2横指下方に刺入針をほぼ10-15 mm刺入するとやはりマンドリンを抜くと髄液が噴出する。即ち大槽内

に針尖が入った証拠でありここで試薬を注入投与する方法でも目的はかなえられるのである。著者は主として前者の方法、側脳室内投与法に従って実験を行った。

2) 運動系の分析

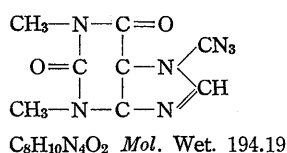
実験観察の判定については、先ず生起する痙攣を3型即ち、左右同時に発来する痙攣を間代性痙攣略して(KK)としさらに四肢交互に表われるもの即ち歩行様痙攣を交代性痙攣略して(LK)、四肢強直性に表われる痙攣を強直性痙攣略して(TK)と分類し、更にこれ等3型の何れにも分類し得ない運動を特に自発運動と記載することにした。又上記各種運動現象に附随する流唾、鳴声、振尾、脱糞、排尿等自律諸種現象をも観察記録し実験成績の参考とした。以上著者は凡て実験室内にて行ったが最後に実験中は室温25-30°Cに保つよう留意し以下行ったことを附記する。

3) 試薬

用いた試薬は一般市販のカフェインを用いて此れを其の都度各濃度の水溶液として本実験を行うことにした。

本物質の構造式並び分子量等に就いて見ると次の如き構造を有する。

(1,3,7 Trimethyl xanthine)



即ち此のカフェインは一名Theinとも言われ1881年 Strecker によりはじめて人工合成されたものであり、又1820年 Runge がコーヒー豆より発見した物質で従ってコーヒー(1-1.3%)抹茶、ウーロン茶(4.0%)等には相当量存在し、茶を立てる、コーヒーを入れる等の表現は取りもなおさず温水又は熱湯を用いて、コーヒー、緑茶等より本物質を抽出する事にあると考えて良からう。尙本物質は味覚を刺戟する事はあるが渋味を誘発することは茶の成分中にあるタンニンによる、即ちタンニンの収斂作用に依る事

は周知の如くである¹²⁾。

其処でかくの如きカフェインを犬の脳髓に直接投与した際にはたして痙攣(KK)が起るであろうか。もし起るとすれば、それより低濃度即ち痙攣閾下量にて VB_1 と重加するであろうか、或は又全く逆の結果を生ずるであろうか。しかしもし重加すれば、先きに述べた述式 1, 2, 3 の反応式をいずれかの部分で促進する性質を有することにより本物質が痙攣を起すものと解釈出来るか又は一方 INAH を用い此の物が INAH と重加する力を検すればカフェインの VB_6 に対する作用を知ることが出来る。

III. 実験成績

其処で以下順次にカフェインの中樞神経運動系に対する作用並びに機制に就いて実験を行った成績を述べることにする。

1) カフェインの直接投与による痙攣

最初にカフェイン単味を用いての実験を試みることにした。即ち此の物を水溶液として既に述べた如き方法によって犬の脳脊髄液内に一定量注入投与することにした。此の際用いたカフェインの濃度は $0.1 M$, $0.2 M$ の各々に就いて検べたが投与量に於て此れを増減せしめる方法をとったと云うのは、此のものは極めて水に難溶な所からである。

先ず $0.1 M$ の場合であるが此の際に於ける $1.0 ml$ 注入時は何等興奮現象をみとめ得なかつた。其処で投与量を更に増し $2.0 ml$ として試みたが痙攣は起らぬ。

其処で著者は更に増量せしめ $0.1 M$, $4.0 ml$ を 1 回投与量として同じく試みて見た。その成績は何等興奮現象を認めず、但し繰返し注入することに依り瞳孔散大は見られたが痙攣生起は全く見ることが出来なかつた。此の際には繰返し合計 $4 ml$ 3 回の成績である。

其処で著者は $0.2 M$ と濃度を増して次の実験を試みることにしたが其の結果に第 2 表の如き成績を得た。即ち体重 $7 kg$ の成犬を用い $0.2 M$ $1.0 ml$ を脳髄液中に投与しても自発運動のみ認めただけであつた。其処でさらに繰返し同量を

投与したが此の際も同様、更に同量を投与したが拳尾のみで其の他興奮現象はみとめられなかつた。其処で再び注入を同量試みたが $0.2 M$, $4.0 ml$ の注入によりはじめて 25 分 30 秒の痙攣潜刺激時間を要した上で KK の発来を得た。

第 2 表

白 犬 ♀ 7 kg		室温 15°C
11° 38' -	左側脳室 カフェイン $0.2 M$ $1 ml$ 注入す	↑ (LZ・25' 30'') ↓
40' -	自発運動	
53' -	再注入 $1 ml$	
54' -	自発 流唾 ↓	
58' -	再注入 $1 ml$	
12° -	拳尾	
12° 3' -	再注入 $1 ml$	
30' -	全身 KK (DZ 40'')	
4' 10' -	KK 停止	

第 3 表

白 犬 ♀ 7 kg		室温 15°C
10° 55' -	右側脳室 カフェイン $0.2 M$ $1 ml$	↑ (LZ 40' 0'') ↓
58' -	同時 自発運動	
11° 7' -	流唾	
11° 23' -	自発運動	
40' -	再注入 $1 ml$	
28' -	眼球振盪	
30' -	再注入 $1 ml$	
33' -	自発運動	
11° 35' -	再注入 $1 ml$	
30' -	全身 KK (DZ 30'')	
36' -	KK 停止	
	流唾 ↓	
	実験中止	

同様にして $0.2 M$, $1.0 ml$ を他の実験成績より見てもやはり同様な成績を得、此の際に痙攣潜刺激時間は 40 分 0 秒を要している。即ち第 3 表が其の例である。

以上カフェイン単味を $10 kg$ 前後の成犬の脳脊髄液内に投与した場合に於ける実験成績を総括すると第 4 表の如く $0.2 M$, $4.0 ml$ がその痙攣臨界量であることが実験的に明らかになったのである。

第 4 表

カフェイン投与量	痙攣臨界量並びに潜時 痙攣潜刺激時間	
$0.1 M$	$1.0 ml$	(-)
	$2.0 ml$	(-)
	$4.0 ml$	(-)
$0.2 M$	$1.0 ml$	(-)
	$2.0 ml$	(-)
	$4.0 ml$	(25' 30''-40' 0'')

2) VB_1 との重加現象

先きに述べた如く高等動物脳髓内に於ける興

奮伝達物質生成過程はⅠ式及びⅡ式に示す如くであるから、そのうちの二因子をとってカフェインが VB_1 と重加するか或は逆に其の作用を低下せしめるか、と云う問題に就いて試みることにした。即ち VB_1 は一定量投与することによって KK を発来せしめる。其の際の痙攣臨界濃度は $0.05 M$ 、 $1.0 ml$ である。先きに著者が実験成績 1) に於て報告した如くカフェインの痙攣臨界量は $0.2 M$ 、 $4.0 ml$ 、即ち濃度概算すれば $0.8 ml$ 、 $1.0 ml$ であるから、この両者の共に痙攣臨界量以下のものを混合投与ならしめた際に、もし痙攣を発来したならばその時は両物質間に於て重加反応があったと見る事が出来る。或は此れと逆に個々の単味に於ける痙攣臨界濃度よりはるかに多量を投与せしめなければ両者混合に於ける際の痙攣が発来し得ない成績を得たならば、此の際には云うまでもなく重加現象は全くないものと考えられる。以下此の問題を究明せんとして本研究を試みるに至った。即ちカフェイン $0.1 M$ 、 $1.0 ml$ 並びに VB_1 、 $0.03 M$ 、 $1.0 ml$ 合計 $2.0 ml$ を脳髄液内に注入投与を試みた。勿論両者共に痙攣臨界量以下の量であることは云うまでもないが、此の実験成績は何等興奮現象の発来は認め得なかつた。カフェイン $0.2 M$ 、 $1.0 ml$ 及び VB_1 $0.03 M$ 、 $1.0 ml$ の際もやはり同様成績従って興奮はみとめられなかつた。然しカフェイン $0.1 M$ 、 $2.0 ml$ と VB_1 $0.02 M$ 、 $1.0 ml$ 合計 $3.0 ml$ を1回投与量として注入を試みた所、再注入、即ち痙攣潜刺戟時間 28 分 50 秒にて全身強い KK を発来、以後 LK 、 KK の断続するのを確認することが出来た。即ち第5表が其の成績である。

同様にしてカフェイン $0.2 M$ 、 $3.0 ml$ と VB_1 $0.02 M$ 、 $1.0 ml$ 合計 $4 ml$ を同時投与した成績は第6表の如く痙攣潜刺戟時間 4 分 30 秒にて全身 KK を発来以後 LK を伴った成績である。

更にカフェイン $0.5 M$ 、 $1.0 ml$ 、 VB_1 $0.02 M$ 、 $2.0 ml$ 合計 $3.0 ml$ 投与の成績に於てもやはり痙攣の生起は認められたが此の場合に於てもカフェイン単味の際に於ける痙攣潜刺戟時間に比較して極めて短かく、 4 分 0 秒にて発来していること

が解った。其の成績は第7表に示してある。

第5表

(VB_1 $0.02 M$ $1 ml$ カフェイン $0.1 M$ $2 ml$)
茶 犬 ♀ $12 kg$ 室温 $15^\circ C$

9° 19'	右側脳室(VB_1 カフェイン $0.1 M$ $2 ml$) $0.02 M$ $1 ml$) 入す	↑ (LZ 28' 50") ↓ (LZ 3' 10")
32''	排尿	
11' 18''	泣声 流唾	
12' 9''	脱糞	
9° 25' -	再注入 $3 ml$	
38' -	同時 自発運動 泣声 流唾 (LZ 28' 50")	
9° 38' 50''	顔面 KK	
39' 15''	全身 KK (DZ 25")	
40'	LK に移行	
41' 19''	顔面 KK (DZ 7")	
42' -	全身 KK	
7''	KK 停止	
21''	四肢 LK	
30''	LK 止る	

第6表

(カフェイン $0.2 M$ $3 ml$ VB_1 $0.02 M$ $1 ml$)
白 犬 ♂ $8 kg$ 室温 $15^\circ C$

10° 2' -	左側脳室(VB_1 カフェイン $0.2 M$ $3 ml$) $0.02 M$ $1 ml$) 入す	↑ (LZ 4' 30") ↓
3' -	同時 自発	
5' -	自発 拳尾	
10'	脱糞	
6' 30''	全身 KK (DZ 40")	
7' 10''	LK に移行	
12'	LK 停止	
14' 10''	自発 流唾	
15' -	OB 流唾のみ	
11°	実験中止す	

第7表

(カフェイン $0.5 M$ $1 ml$ VB_1 $0.052 M$ $2 ml$)
茶白犬 ♀ $7 kg$ 室温 $16^\circ C$

13° 24' -	右側脳室(VB_1 カフェイン $0.5 M$ $1 ml$) $0.02 M$ $2 ml$) 入す	↑ (LZ 4' 0") ↓
25' -	流唾	
27' 42''	顔面 KK	
28' -	全身 KK (DZ 1' 21")	
29' 21''	KK 停止	
30' -	流唾多し ↓	
35' -	泣声 ↓	
40' -	静止状態 ↓	
15°	実験中止す	

以上其の代表例を此処に表示したが何れの場合においても1回発来した KK は其の後ほとんどの例に於て断続発来を示しかつ然もカフェイン単味の場合に於ける痙攣臨界濃度より低濃度に於て、然も極めて痙攣潜刺戟時間が何れの場合を見ても短かいと云うことが解った。

此等の成績結果よりカフェインは VB_1 と重

加をすると云うことが推定し得られた。

3) INAH との重加現象

然らば高等動物脳髓内に於ける興奮抑制物質生成過程方程式を先きに述べたが、此の式を促進せしめる物質が VB₆ である点から此の VB₆ 阻害剤とせられている INAH を用いて本物質、即ちカフェインがはたして INAH と重加するか否かと云う問題に就いて検討することにした。

方法は前記成績 2) に於いて試みたと同様にカフェイン痙攣臨界量以下と INAH と混合投与した際にはたして脳髓内に於て興奮現象が見られるや否やを順次検討したのである。

カフェインの痙攣臨界量は既に述べた所であるが INAH と同時投与した際に興奮性を有するが両者共に痙攣量以下にてもし有するならば両者が重加したものと考え、以下試みた。

即ち、0.1 M カフェイン 2.0 ml と 3% INAH 0.5 ml を同時に投与した場合の成績を見ると第 8 表に示す如く合計 5.0 ml 注入により何等痙攣発動を見ることが出来なかった。

第 8 表
(カフェイン 0.1 M 2 ml アイナー 3% 0.5 ml)
茶黒犬 ♀ 7 kg 室温 15°C

11° 17' -	右側脳室 { カフェイン 0.1 M 2 ml } 2.5 ml { アイナー 3% 0.5 ml } 注入す
20' -	流唾 静止状態
27' -	再注入 2.5 ml 同時 泣声 流唾
31' -	舌なめづり
32' -	脱糞 ↓
40''	放尿
33' 40''	眼瞼パチパチ

同様に 0.2 M カフェイン 1.0 ml と、3% INAH 0.4 ml の混合 1.4 ml を注入した所、繰返し注入を試み、合計 4 回でカフェイン、0.2 M、4.0 ml、INAH 3%、1.6 ml を投与したにもかかわらず痙攣の発来を認め得なかった。其の成績は第 9 表に示した如くである。

以上の成績は著者が行なった実験成績の 1 部をあげたものであるが、此の INAH とカフェインの場合に就いては両者共に痙攣臨界量投与にもかかわらずカフェインと混合投与しても何等痙攣発動を見ることが出来ない。言いかえればカフェインは、INAH と重加しないと云う成

第 9 表
(INAH 3% 0.4 ml カフェイン 0.2 M 1 ml)
黒犬 ♀ 7 kg 室温 15°C

12° 45' -	右側脳室 { INAH 3% 0.4 ml } 1.4 ml { カフェイン 0.2 M 1 ml } 注入 同時 自発運動 泣声
46' -	流唾
50' -	OB 流唾多し ↓
52' -	拳尾 脱糞
13° 2' -	拳尾 脱糞
10''	脱糞
15' -	再注入 { INAH 3% 0.4 ml } 1.4 ml { カフェイン 0.2 M 1 ml }
20' -	再注入 { INAH 3% 0.4 ml } 1.4 ml { カフェイン 0.2 M 1 ml }
21' 38''	四肢 TR
25' -	再注入 { INAH 3% 0.4 ml } 1.4 ml { カフェイン 0.2 M 1 ml }
27' 31''	呼吸深大 実験中止

第 10 表
(INAH 3% カフェイン 0.2 M) 4 ml
黒犬 ♀ 7 kg 室温 15°C

12° 45' -	右側脳室注入と同時に自発 泣声
46' -	流唾 静止状態
52' -	拳尾 脱糞
13° 2' -	拳尾 脱糞 静止状態
21' -	四肢 TR
27' -	呼吸深大
30' -	眼瞼ピクピク
34' -	四肢 TR
35' -	両耳介立つ
36' -	流唾続く 静止状態
38' -	眼瞼ピクピク
39' -	散瞳 (中等度)
42' -	四肢 TR
45' -	呼吸深大 眼球水平振盪
50' -	静止状態つづく
57' -	流唾多く 肢四 TR のみ 実験中止

績を得たのである。

ねんの為に INAH の痙攣臨界量の 4 倍とカフェインとの同時投与の 1 例が第 10 表である。

此等各々の実験でカフェインは INAH と重加しない事は明かであるが、1 歩進んで INAH の痙攣量をかえて越えた量までカフェインがおさえるであろうか、此の点に就いての疑問を持ち INAH とカフェインとで実験を試みた処が INAH の痙攣臨界量をはるかに越えた量をあたえてもカフェイン共々あたえる時は決して痙攣を起さない。云い換ればカフェインは単に INAH と重加しないばかりでなく、かえて

INAH 痙攣量を抑制する働があると言わなければならぬ。云いかえれば INAH は VB₆ 阻害物質で常には陰性化学的伝達物質生成を阻害するのであるが、カフェインは却って陰性抑制伝達物質生成を助けると云う事である。此の点を明らかにす為、阻害臨界量を求めて見ると、第11表の如くで、INAH は単独では 3.0%、1 ml が痙攣臨界量であることはすでに報告されている所であるが、カフェインと共に投与した場合は、3%、4 ml の投与に於てもいわゆる INAH 痙攣の発来を認め得なかつたのである。此れ以上の INAH を投与してはじめて痙攣を生起する。これを計算してみると INAH 痙攣臨界濃度の 4 倍量までカフェインで抑え得ることになる。

更にカフェインの臨界量は 0.2 M、4 ml であるが、その量と INAH 単独では当然痙攣をおこすための臨界量以上、即ち 3.0%、1.2 ml-3.0%、4.0 ml でも互に相殺していることが判る。

第11表

カフェイン	+INAH	痙攣 (KK)
0.1 M 1 ml	+3.0 %	0.5 ml (-)
0.1 M 2 ml	+3.0 %	0.5 ml (-)
0.1 M 4 ml	+3.0 %	1.0 ml (-)
0.2 M 0.4 ml	+3.0 %	2.8 ml (-)
0.2 M 0.4 ml	+3.0 %	3.2 ml (-)
0.2 M 0.4 ml	+3.0 %	3.6 ml (-)
0.2 M 1 ml	+0.15 %	1.0 ml (-)
0.2 M 1 ml	+2.0 %	1.0 ml (-)
0.2 M 1 ml	+3.0 %	0.4 ml (-)
0.2 M 2 ml	+3.0 %	0.8 ml (-)
0.2 M 3 ml	+3.0 %	1.2 ml (-)
0.2 M 4 ml	+3.0 %	1.6 ml (-)
0.2 M 4 ml	+3.0 %	2.0 ml (-)
0.2 M 4 ml	+3.0 %	2.4 ml (-)
0.2 M 4 ml	+3.0 %	2.8 ml (-)
0.2 M 4 ml	+3.0 %	3.2 ml (-)
0.2 M 4 ml	+3.0 %	3.6 ml (-)
0.2 M 4 ml	+3.0 %	4.0 ml (-)
臨界量 = {	カフェイン 0.2 M	4 ml.....(KK)}
	INAH 3.0%	1 ml.....(KK)}

即ちカフェインは VB₆ 阻害による陰性伝達物質生成阻害を抑制して陰性伝達物質を生産せしめる。

IV. 総括的考察

高等動物脳髓内に於ける抑制過程を制止せしめる物質としてパフロフは条件反射等の研究よりカフェインをあげたがカフェインに関しては

臨床的な応用は古くより試みられているにもかかわらず、基礎的研究は今日までなされていなかった。近時、林及び其の同門により高等動物脳髓内に於ける化学的伝達物質の研究が究明せられるに至り脳髓内のグルタミン酸が脱炭酸せられて生成する GABA を母体とし、一方興奮抑制伝達物質として実験的に証明せられた物質として GABOB があげられ、然も此の間に於ける脳髓内反応過程も順次解するに至った。

他方興奮伝達物質に関しても GABA を母体とし、此の間に補酵素として VB₁₂、葉酸、パントテン酸の如き物質と ATP の如きエネルギー供与体が介在することによって興奮物質の生成されることが解明した。其処で此の両者に関して前者即ち陽性伝達物質生成を促進するものを代表として、VB₁ を用い、後者即ち興奮抑制伝達物質生成時に要する VB₆ を阻害する意味の代表として、INAH をそれぞれ選び、此等がカフェインによって如何に影響されるかを検討した。勿論カフェイン単味に依る実験を最初に試み、此等実験を総括すると、カフェイン単味を脳脊髄液内に注入投与を試みた成績によると 0.2 M、4.0 ml に至りはじめて痙攣潜刺激時間 25 分 30 秒-40 分位にて痙攣を生起することからこれをカフェインの臨界量と定めた。

其処で著者は上記 VB₁ と重加するや否やを次に検討したが、此の場合は明らかに両者は重加する。其処で INAH とは如何。著者は同様に、INAH と共に脳脊髄液内に注入投与を試みたが、此の場合は両者は痙攣臨界量以下では何等重加しない。何れか一方を痙攣量に増量しても何等重加しない。従ってカフェインは INAH とは重加をし得ないと云う事が判った。

- 1) カフェイン 0.1 M-4.0 ml.....(-)
- VB₁ 0.02 M-1.0 ml.....(-)

カフェイン 0.1 M 4.0 ml + VB₁ 0.02 M
1.0 ml(+)

- 2) カフェイン 0.1 M-1.0 ml.....(-)
- INAH 3.0%-0.5 ml.....(-)

カフェイン 0.1 M 1.0 ml + INAH 3.0%
0.5 ml(-)

3) カフェイン 0.2 M-4.0 ml.....(+)	
INAH 3.0%-4.0 ml.....(+)	
<hr/>	
カフェイン 4(0.2 M 1 ml)+INAH 4(3.0%・1.0 ml).....(-)	

即ち上記式でも明らかな如く、カフェインおよび INAH の両者ともに混合投与しても痙攣を発来し得ないのみならずカフェインは INAH 痙攣臨界量を抑制するどころか、かえってカフェインが INAH 痙攣を阻害する。これは如何なる意味があるのであろうか。即ち陰性伝達物質生成反対作用をもつものを抑制することにある。即ち陰性伝達物質の生成を助ける。即ち促進していると見てさしつかえない。此の意味でカフェインは伝達物質生成には二重作用を有し、一方興奮過程伝達物質生成を促進すると同時に一方陰性過程伝達物質の生成をも促進すると言わざるを得ない。このため二重作用は極めて特徴の有る二重作用で、即ち陽性物質を造らせしめるのに対して、同時に陰性伝達物質をも造らせ、この差引きの上にカフェインは独特な興奮性を有すると云うことになる。従来陽性、陰性伝達物質に対して影響を与える物質は多かったが、それは陽性伝達物質を促がすと共に、陰性伝達物質を抑制する働きを有するのは多数発見せられてるにもかかわらず、陽性並に陰性伝達物質の生成を促し其の差引勘定で陽性効果を得るというカフェインの如き物品は他に類例がないと考えられる。

V. 結 論

1) カフェインは単独で高等動物脳髓内に一定量注入することに依り、他の化学的諸痙攣剤と全く同じく間代性痙攣を発来せしめる。其の臨界痙攣量は 0.2 M, 4.0 ml である。更に此の時の痙攣潜刺戟時間は間接痙攣剤、即ち痙攣潜刺戟時間が数分-数十分を要する物質に属する。

2) 痙攣潜刺戟時間が長いと云う事は、当然此処に投与されてから何等かの化学的反應を経た上で痙攣を発来すると想定せられるから、先ず VB₁ と重加するか否かを検した。その結果はこ

の両者は重加する。

3) 然らば脳髓内抑制伝達物質生成に関しては如何、VB₆ を阻害する物質、INAH とは全く重加を見なかった。却って強く INAH を抑制する。即ち抑制伝達物質生成を促す。

4) カフェインは脳髓内の興奮伝達物質生成を促進すると同時に抑制伝達物質生成をも促し、その差引き作用で興奮を生起する。この為にカフェインは他の興奮剤と異なる 1 種の興奮剤である。

終るに臨み終始御懇篤なる御指導、御校閲の勞を賜った恩師慶応義塾大学医学部教授兼日本大学歯学部教授林 麟博士に深甚なる感謝の意を表すると共に日本大学歯学部教授原原六郎博士の絶えざる御指導と御鞭撻に対して心から感謝の意を表します。更に日頃御鞭撻を頂いた日本大学部長鈴木勝博士に厚く感謝致します。尚本教室高下弘夫博士を始め旧現教員各位の御指導並びに御協力に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 荒井篤文；OMP 痙攣の実験生理学的研究（日本生理誌に掲載の予定）
- 2) Hayashi, T. (1956) Chemical Physiology of Excitation in Muscle and Nerve. (Nakayama Shoten)
- 3) Hayashi, T. (1959) Neurophysiology and Neurochemistry of Convulsion. (Dainihon Tosho CO. LTD.)
- 4) 甲田和幸；中樞神経運動系に対する Vitamin B₆ 並びに Pyridoxar の二重作用に就いて（日本生理誌に掲載の予定）
- 5) 水野英利；ビタミン B 群の中樞運動系に対する作用（日本生理誌に掲載の予定）
- 6) 二村美美江 (1959) Vitamin B₁ 及びその類似物質の髓液内投与による痙攣の機制に就いて 日本生理誌 21, 1210
- 7) 中村耕之助・二村美美江 (1959) GABA 痙攣に対するパントテン酸の作用 慶応医学 36, (11号)
- 8) 奥寺恒夫；中樞神経興奮伝達物質の生成に対するエネルギー供与基質について（日本生理誌に掲載の予定）
- 9) Pavlov・林 麟訳 (1938) 条件反射学（大脳兩半球の働きについての講義）上、中、下 新潮文庫新版 (1955)
- 10) 佐藤忠男 (1959) γ -amino 酪酸痙攣に対する ATP の作用に就いて 日本生理誌 21, 1222
- 11) 高田亮平 (1960) ビタミン学の進歩（第 2 集）（京都大学工学部内 日本ビタミン学会）
- 12) 山口寿著 (1954) 臨床の薬理（永井書店 大阪）

萬有製薬 主要製品

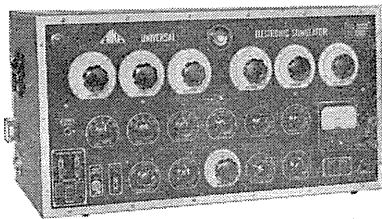


(世界最初の合成ペニシリン)	シ ン シ リ ン
(持続性二基ペニシリン)	バ イ シ リ ン
(国産、抗結核、広範囲抗生剤)	カ ナ マ イ シ ン
(赤痢、腸炎患 百日咳治療抗生剤)	コ リ ス チ ン
(高血圧、浮腫、妊娠中毒症) クロロサイアザイド	ク ロ ト ラ イ ド
(ハイドロクロロサイアザイド)	ダ イ ク ロ ト ラ イ ド
(テトラサイクリンメタ隣炭塩)	ブ リ サ イ ー T X
(" シロップ)	テ ト レ ッ ク ス (シロップ)
(副腎皮質ホルモン製剤) コーチゾン	コ ー ト ン
(ハイドロ"コーチゾン)	ハ イ ド ロ コ ー ト ン
(ブレド"ニソロン)	コ ー デ ル コ ー ト ン
(デキサメサゾン)	デ カ ド ロ ン
(非麻薬鎮痛剤)	ザ ク チ リ ン
(メチオニン製剤)	バ ン チ オ ニ ン

東京都中央区 萬有製薬株式会社 日本橋本町2-7

横浜市立大学医学部生理学教室 島山一平教授監製

アイカ万能型電子管刺激装置 W-1 型



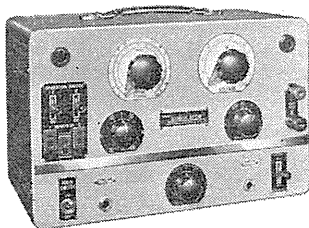
1. 電気的可変要素が各々独立して調整できる
2. 測定値、設定値が正確且信頼度が高い
3. 可変要素の可変範囲が大きい
4. アーチファクトが小さい
5. 操作簡易
6. 安定性がよい
7. 用途が広い

PAT.ENT.No.221763

- 繰返し二重刺激可能
- 独特の配線回路
- 直読目盛

¥ 130,000.

アイカ学習用電子管刺激装置 E-1 型



1. 生理学実習実験のほとんどすべてを1台でまかなうことができる
2. 詳しい知識のない者でも直ちに間違いなく使用できる
3. 設定値の読取確実
4. 必要にして充分な可変要素の調整範囲
5. 安定度良好
6. アーチファクト僅少な絶縁出力
7. Rotatorium の回転、ブラウン管オシロスコープの単掃引と同期可能

¥ 30,000.

— 詳細カタログ御一報次送呈 —

東京都文京区本郷1丁目2番地 株式会社 市河思誠堂 電話 (921) 0349・2917

昭和三十五年十二月二十日印刷

編集兼
 発行人

東京都文京区本富士町
 東京大学医学部生理学教室内

戸塚 武彦

印刷所

山形県鶴岡市馬場町甲三

中村作右衛門
 鶴岡印刷株式会社

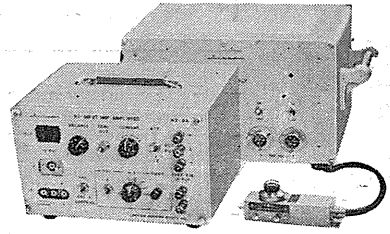
発行所

東京都文京区本富士町
 東京大学医学部生理学教室内

日本生理学会

振替東京八六四三〇
 郵便 百四三〇
 円

nikken



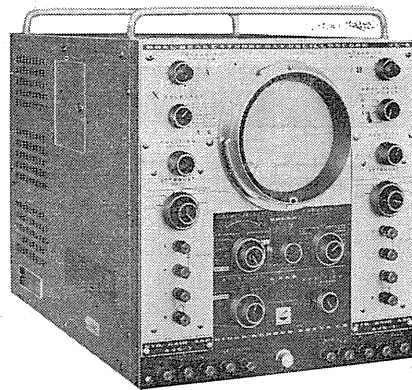
MZ-3A
微細電極用増巾器

生体組織の一せんい、一細胞の電気現象を観測する微小電極法、超微小電極法による動作電流増巾器。(電極先端の外径 1μ 以下 ~ 10 数 μ)



MSE-3
電子管刺戟装置

神経や筋の興奮を誘発するため、生体に損傷を与えることなく電氣的に刺戟を行う装置。
 繰返周波数 0.1cps ~ 10 kc
 遅延及び持続時間 $10\mu s \sim 1$ sec
 矩形波及び直流出力電圧 0 ~ 150 V



VC-6
二現象 万能ブラウン管オシロスコープ

複合ブラウン管を使用、垂直軸増巾器をプラグイン方式にして各種組合せ、直流現象から高周波にわたる観測、4現象観測も可能



営業品目
 脳波計 各種装置
 分光分析 各種装置
 音声刺戟 各種装置
 電気脳内(眼底)血圧計
 電気血圧計
 筋電圧自動補償型直流増巾器
 分極電圧自動補償型直流増巾器
 インク書オシログラフ
 多用用途監視記録装置
 トリオオーディオメータ



日本光電工業株式会社

営業部 東京都中央区八重州3-3
 大阪営業所 大阪市天王寺区上本町5-11
 福岡営業所 福岡市下鶴町1-0
 仙台営業所 仙台市立町通り9中央タクシービル内

代理店 石村器械製作所
 札幌市北八条西四丁目
 代理店 朝日電子株式会社
 名古屋市中区朝日町2-5