

日本

# 生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

31巻 10号 1969

原著

- 遠藤 昭 伸：微小電極刺入時におけるカエル骨格筋静止電位の発現経過……601  
杉谷 正 東：有髄神経線維膜電位変化の細胞内記録……609  
檜 垣 鴻：K電極によるアスパラギン酸カリウム塩のKイオン活量の測定 細胞  
内電位測定による腎尿細管機能 特にアスパラギン酸塩の影響 第3報……617

短報

- Hidenobu Mashima and Michitsugu Handa : The duration of the active state in the  
guinea-pig taenia coli ……627  
Shizuko Iwasaki and Youko Satow : Spontaneous grouped discharge of secretory neuron  
soma in X-organ of crayfish, *Procambarus clarki* ……629

学会抄録

- 第182回生理学東京談話会……631

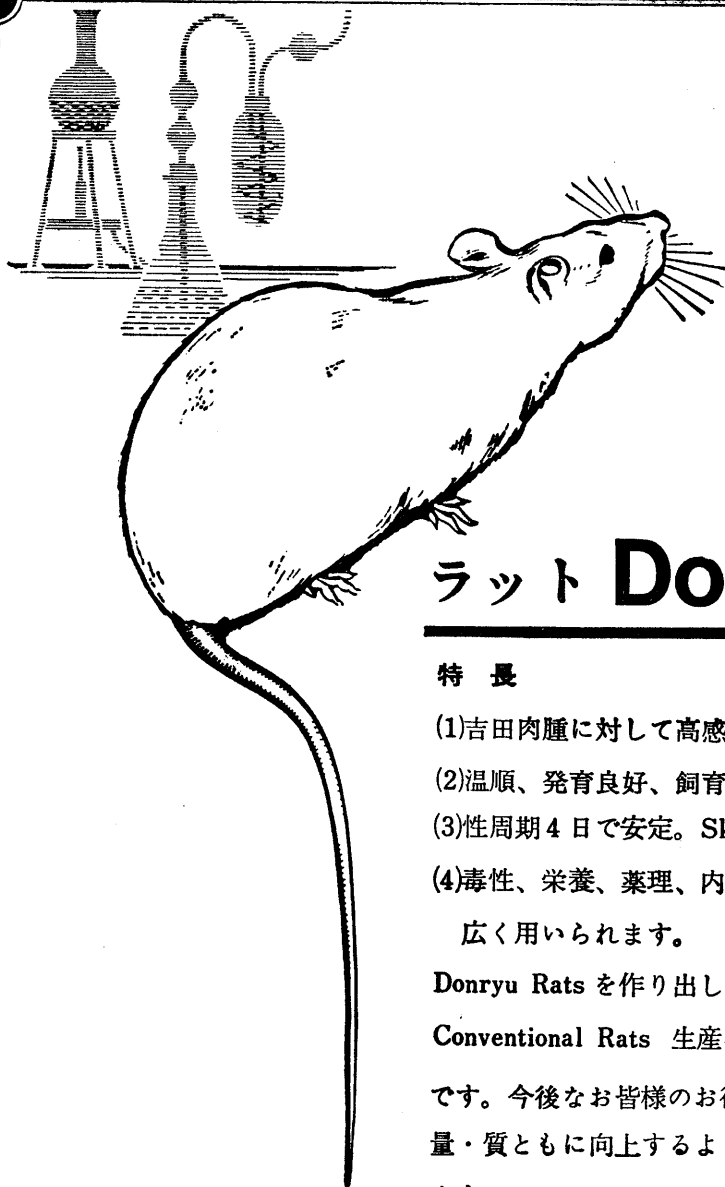
- 委員会 高橋 憲：「生理学における教育状況の実態調査結果 1-6」  
に関する検討……635

- 海外だより 井上文武：カナダより……638

- 書評 中浜 博：皮膚感覚, D. Sinclair 著・市岡正道訳……641

日本生理誌  
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



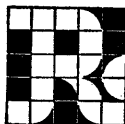
## ラット Donryu

### 特長

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

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

飼育系統——〈Donryu〉〈Wistar〉〈Buffalow〉



日本ラット(株)

埼玉県浦和市榎岸608-3  
TEL (0488) 61-6850

# 第18回 日本生理科学連合講演会

日 時 昭和44年12月13日(土) 午後1～5時

場 所 順天堂大学 5号館3階講堂  
東京都文京区本郷 2-1-1

## 主 題 骨 格 筋 の 機 能

開 会 (午後1時)

- 1) 筋収縮の生理学的研究の現状と問題点  
(慈恵医大・生理) 名取 礼二 (30分)
- 2) ミオシン分子から見た筋収縮の問題点  
(順天堂大・医・生化) 関根 隆光 (30分)
- 3) アクチン分子と筋収縮  
(東大・教養・生物) 丸山 工作 (30分)  
休 憩
- 4) 興奮収縮連関 (東大・医・薬理) 遠藤 実 (30分)
- 5) 筋収縮の力学  
(順天堂大・医・生理) 真島 英信 (30分)
- 6) 筋収縮と運動  
(東大・教育・体育生理) 猪飼 道夫 (30分)

閉会の辞に代えて

国際生理科学会議 (特に第25回) について

国際生理科学連合理事 加藤 元一  
日本生理科学連合委員長

主 催 : 日本学術会議生理科学研究連絡委員会

幹 事 : 順天堂大学医学部生理学教室 真島英信・竹内 昭

- 交通 :
1. 国電お茶の水駅下車
  2. 地下鉄(丸ノ内線)お茶の水駅下車 } 東大方面へ徒歩5分
  3. 都電 新宿一水天宮 ⑬ 順天堂病院前下車  
駒込(王子)一東京駅八重州口 ⑭ 本郷2丁目 下車
  4. 都バス 荒川土手一東京駅北口, 志村車庫一東京駅北口,  
順天堂病院前一渋谷 順天堂病院前下車

(原著) 微小電極刺入時におけるカエル骨格筋静止電位の  
発現経過 612.743 : 597.82

遠 藤 昭 伸\*

**Membrane potential change during impalement of frog sartorius muscle**

Akinobu Endo (*First Department of Physiology, Nippon Medical School*)

Time course of the resting potential development was examined in detail. Potential change was recorded continuously from immediately before impalement.

1. After the start of the membrane penetration with a microelectrode, a fairly long time was needed for the resting potential to attain its final value. The delay was 7.0 msec in the mean with a range of 0.2~52 msec (124 fibres), when measured at the 90% level of the full resting potential (Fig. 2 and 3).

2. As to the cause of this slow potential development, the membrane depolarisation due to an impalement was considered; but the delay period had in effect nothing to do with the resting potential magnitude, which was taken as a parameter indicative of the depolarisation (Fig. 4). It could not be correlated with DC resistance of the electrode employed, too (Fig. 5).

3. Similar observations were made with toad sympathetic ganglion cells. There was found again a considerable time lag amounting to 1.1 msec in the mean (Fig. 6 and Table 1).

4. Some sources of errors were discussed, and it was concluded that the delayed time course of membrane potential is not attributable to any artefact, but it possibly represents something about the intracellular potentials of muscle.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1969) 31, 601-608〕

1. 緒 言

神経および筋線維の電気的構造に関するケーブル説には、幾つかの仮定がその前提にある。その主要なものは、1) 膜は、その縦軸方向の電流に対して無限大の抵抗とゼロの電気容量をもつ。2) 膜を横切る電流に対する膜抵抗および膜容量は一定値をもち、直流通電中時間と共に変ることはない。3) Axoplasmないし myoplasm の radial current に対する抵抗は、一様に分布し、且つ膜抵抗に比して無視しうる程小さい (Katz<sup>1)</sup> 1939, Hodgkin and Rushton<sup>2)</sup> 1946) というものである。この最後の想定を換言すれば、静止「膜」電位はその名のとおりに「膜」に局限して存し、細胞内 transverse 方向の電位差は、「膜」を横切る電位差に比して無視しうる。細胞内はどこも等電位とみなしう

る、ということになる。

この問題は、Hermann<sup>3)</sup> (1879), Biedermann<sup>4)</sup> (1896~8), Cremer<sup>5)</sup> (1899) にさかのぼる古い問題であるが、その後、筋電気緊張性電位中の瞬時に発現する電位成分 (nichtpolarisatorische Stromschleifen, Schaefer et al.<sup>6)</sup> 1938) として、あるいは、電気緊張性膜電位と異なり chloroform で崩壊しない細胞内 transverse 電位成分 (cf Katz<sup>7)</sup> 1948) として、比較的近年までなお論議の対象となった。これらの結果は、上記等電位性の想定と相反する方向に出たのであるが、Hodgkin and Rushton<sup>2)</sup> (1946, イセエビ無髄巨大線維), Katz<sup>7)</sup> (1948, カエル筋) がケーブル説に立脚して行なった膜電氣的定数測定実験とその後の細胞内電極法によるこの種実験の発展につれて、次第に忘れ去られた。これらの実験が精緻であり、えられた結果 (膜電氣的定数) が生物電気現象の理解上実り多きものであっただけに、その実験の土台をなすいくつか

\* 日本医科大学第1生理学教室  
〔昭和44年7月25日受付〕

の仮定は直接の証明なきまま、そして当否の検討不十分のまま置き去られた感がある。

ケーブル説ないし核電導体模型が、神経・筋の電気的構造の基本的骨格として妥当なことは確かであるが、これらの「説」や「模型」において無視しようとされる細胞内不等電位性の問題は、近時電子顕微鏡的に明らかにされつつある筋線維の複雑な内部構造 (sarcoplasmic reticulum, その triad など) と関連して見直すべき価値ありと考える。というのは最近, triad 構造との関連において筋線維電気的定数が再検討されたし (Falk and Fatt<sup>8)</sup> 1964, 1965), また膜電位の細胞内誘導実験において、不等電位性を指向する所見がいくつかえられているからである。すなわち齋藤<sup>10)</sup> (1967) は、gamma縫工筋に刺入せる微小電極尖端の位置を移動すれば、記録される静止膜電位の大きさも若干変化することを見ているし、Schanne et al.<sup>11)</sup> (1966) は、カエル筋線維の膜内外を短絡するという方法で測定される膜抵抗値が二本刺し法による測定値より8倍も高いことから、膜抵抗に直列の myoplasm 抵抗成分の存在を示唆している。さらに杉谷<sup>12)</sup> (1969) によれば、カエル有髄神経線維の膜電位を電極刺入直前から時間を追って連続的に記録するに、電極尖端の axon 移行後、膜電位は直ちに最深値をとらずに、平均約

31 msec の遅れを示すという。いずれも線維内部 transverse 方向の不等電位性を指向する所見である。

本実験は、主としてカエル骨格筋についてこの辺の問題を探究すべく企てられた。方法としては杉谷の実験方法にならい、微小電極刺入時の膜電位経過を連続的に観察した。かかる観察法は Nastuk and Hodgkin<sup>13)</sup> (1950) がすでに試みて、筋静止電位の経過について注目すべき所見を提供していること周知のとおりであるが、本実験では、主として刺入直後短時間の膜電位を追求し、その最深値到達までの delay 時間を詳細に分析した。同様な観察をまた gamma 交感神経節細胞についても行なった。

## II. 実験方法

実験材料はトノサマガエル (*Rana nigromaculata*) の縫工筋である。標本箱には、分離神経線維用の空気間隙法装置を用いた (Fig. 1)。

これは、空気間隙をとおしての刺激パルスの印加が容易で、第2の刺激用微小電極を必要としない利点があるからである。間隙の幅は神経の場合より広く3~4 mm としたが、刺入部筋線維に対する乾燥影響は見られず、長時間にわたり安定した記録がえられた。

微小電極は 3 M KCl 充填の硝子毛細管電極

で、その直流抵抗は本実験の目的からしておおよそ 5~200 MΩ の範囲内の種々の値のものを使用した。電極抵抗値の測定は実験後にも行なって、刺入前の値と大差を示す電極は記録から除外した。電極電位差は前置増巾器からの出力電圧 (Fig. 1, compens.) により標本浸液 (正常 Ringer 液) 中で補償した。この補償は、Ringer 液中での電極 tip potential (Adrian<sup>14)</sup> 1956, Küchler et al.<sup>15)</sup> 1964) も同時に補償するものであるが、筋線維内では tip potential が

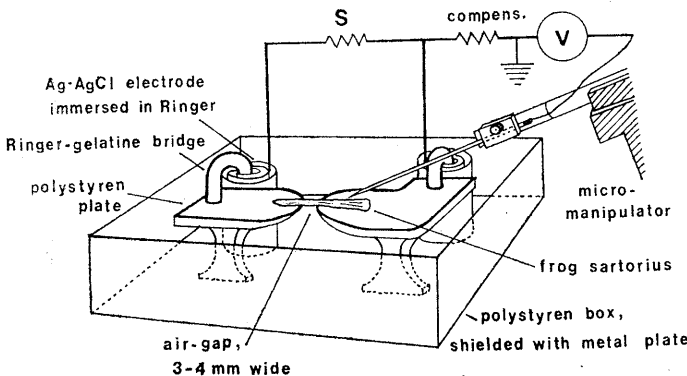


Fig. 1. Diagram of experimental arrangement, showing the potential recording system in combination with an air-gap device for stimulation. V: the input of a capacity compensating, high input impedance preamplifier. compens: the output for compensating the electrode potential. S: the output of a square pulse generator.

減少 (Küchler によれば28%) するから、補償過剰の分だけ静止電位を浅く測定させることになる。その対策として Küchler は、電極充填用稀薄 (0.5 M) KCl 液の使用を推しているが、本実験ではこれを採用しなかった。理由は 10 MΩ 以下の低抵抗電極 (Küchler の Abb. 3 より tip potential は 5 mV 以下と考えられる) を多数使用することによって、この種の実験誤差を避けようと考えたからである。電極は双眼拡大鏡下に筋線維走行に沿って約 45° の角度で刺入した。刺入速度は、あらかじめ空气中で測定しておき、その範囲は 5 μ/sec から 500 μ/sec にわたった。

電位測定器としては cathode follower 方式の前置増幅器 (入力抵抗 2,000 MΩ 以上、浮遊容量補償可能) と、2 現象用 oscilloscope を使用し、入力回路浮遊容量の補償 (増幅器高周波特性の改善) には 100 MΩ のラジオ抵抗を用いた。Brawn 管 beam の一つは外液零電位の表示と同時に、輝度変調回路を用いてこれに時間表示の役割も兼ねさせた。

すでに述べたとおり、本実験の主眼は刺入時の静止膜電位発現の経過を追跡することにあるので、電位変動は long recording camera にて電極刺入直前より連続的に記録した。実験温度は室温 (16~24°C) である。用いた Ringer 液の組成は、NaCl 111.1 mM, KCl 2.7 mM, CaCl<sub>2</sub> 1.8 mM, NaHCO<sub>3</sub> 2.4 mM ; pH 7.2~7.4.

### III. 結 果

電極刺入に伴ない観察される膜電位変動の代表例を Fig. 2 に示す。記録 a は電極先端の myoplasm 刺入から静止電位が最深値の 90% レベルに至るまでの経過が速い例で (図で 0.3

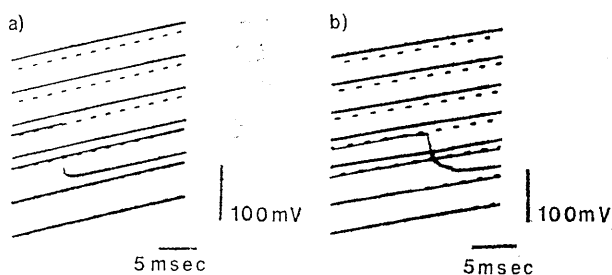


Fig. 2. Membrane potential change recorded continuously at the beginning of impalement (see from bottom upwards). Two typical examples showing a short (record a) and a long (record b) delayed time for resting potential development. Delay time measured at 90% resting potential, 0.3 and 2.6 msec. Dotted lines denote reference potential and time scale of 2 msec.

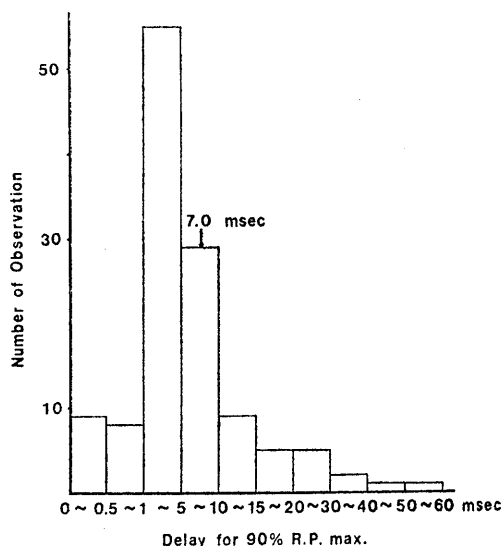


Fig. 3. Histogram of delay period for 90 per cent of the full resting potential. The average value from 124 observations is indicated.

msec), b は逆に緩徐な経過 (2.6 msec) をとる代表例である。両記録にみられるように、静止電位の発現はゼロレベルから sharp に始まるのが通例で、有髄線維にみられるような浅い陰性電位の先行する例は稀であった。かかる例ならばに電位発現経過の不規則な例は、本実験では除外することにした。

静止膜電位の最深値 (max. RP) は、図ではそれぞれ 98.8 mV, 83.5 mV であるが、124 の

全観測例では 50.4~98.8 mV の範囲にあり、平均値は  $79.9 \pm 1.0$  mV (±は平均値の SD, 以下同じ) であった。

さて電位発現経過の遅速を上記のように max. RP 到達までの遅延時間で表わすのは、測定上の誤差が大きく、また指標として必ずしも適当でない。よってこれに代うるに max. RP

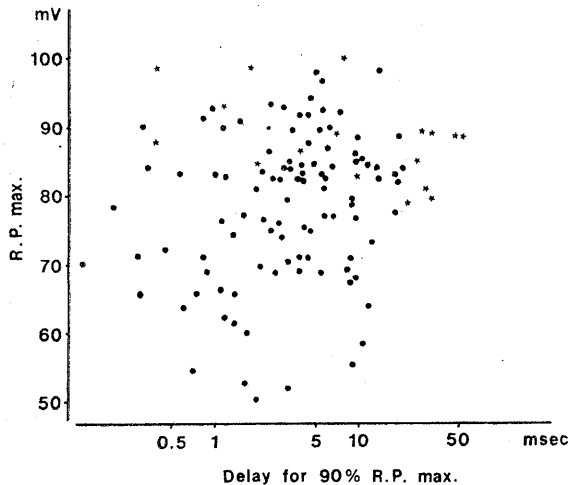


Fig. 4. Scatter diagram of maximum resting potential related to delay period for the 90% level. No clear correlation exists between them. Dots and stars refer to high and low speed penetration, respectively.

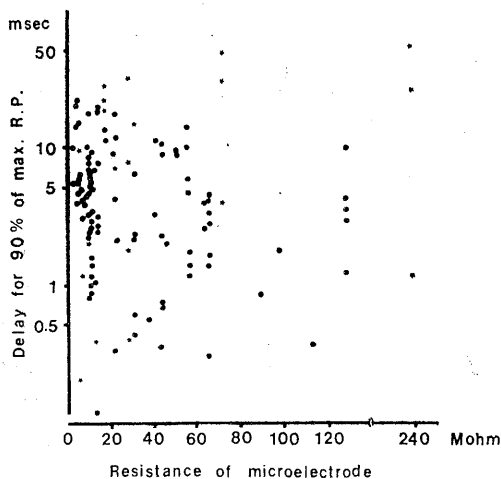


Fig. 5. Delay time plotted against resistance values of the microelectrode used. Taken to show the wide scatter of values. Marks the same as in Fig. 4.

の90%レベルまでの到達時間をもってし、全124例についてそのヒストグラムを示せば Fig. 3の如くである。図から明らかなように、実験例の大多数は 0.5 msec 以上数10 msec の遅れをもち、それ以下のもの(最小 0.2 msec)は9例(7.3%)に過ぎず、遅れの平均値は  $7.0 \pm 0.8$  msec にあった。この平均値は、カエル有髄神経線維における値(同じく90%レベルで4.7 msec, 杉谷, 1969)よりかなり大きく、カエル縫工筋について Nastuk and Hodgkin<sup>13)</sup>(1950)の報告せる delay (数分の1 msec, 90% RP で測定)よりさらに大きい。

実験材料を同じくしながらかくも著明に相違する結果をえた理由は、データを統計的に処理した(本実験)か否か(Nastuk and Hodgkin)に在るであろう。彼らに在っては、長い delay をとるものの多くは静止電位小さく、刺入による人工産物(電極不良, 不完全 seal, 膜脱分極)に由来するであろうとの理由で、廃棄された。しかるに、廃棄の理由である delay 時間と静止電位の大きさとの関係を検討するに、本実験では、Fig. 4に示すとおり何らの相関もみられなかった。数10 msec という緩慢な経過をとって90 mV 前後の静止電位に達する例も多く、逆に delay 0.5 msec 以下の短時間ながら、到達した90%レベルが60数 mV という低さにある例もあった。次に、delay が電極の良否に関係するのではないかとの疑問については、既述の如く本実験では、刺入時電位変動が不規則で電極不良の疑われる例を除外してあることに注意せねばならない。したがって、良好電極の使用下に起こりうる膜の不完全 seal, ないし脱分極が問題になる。さて、その脱分極の度、膜の損傷度は、使用電極の先端口径の大小したがって電極抵抗に依存すると考えられる。何故なれば標本および浸液の条件は同じであり、違うのは

標本毎に異なる抵抗値の電極を用いたことであるからである。本実験において広範囲の種々な抵抗値の電極を使用した所以は、この辺の問題を考えたからであった。かくて電極抵抗と delay 時間との相関を検したのが Fig. 5 であるが、図にみる如く両者間にも相関なく、高抵抗(小口径)、低抵抗(大口径)いずれの電極をもってしても、delay は長短区々であった。また電極抵抗と静置電位との間にも相関関係はみられなかったのである。

茲に注意すべきは、著者のいう静置電位とは、刺入直後に記録される最深の静置電位(max. RP) であって、刺入後1秒以上も経過した時点でのものでないことである。静置電位は maximum 到達後は時間経過と共に減少(Nastuk and Hodgkin によれば毎分 1mV の次序で)するが、この脱分極は今問題でない。問題は、maximum 到達以前、刺入後せいぜい数10 msec の delay 期間中にすでに脱分極有りや無しやである。この早期の膜電位変動は、Fig. 2 でみられるように遅速の差はあれ規則的な経過をもって negativity の度を増しつつあるのである。さらに、「早期脱分極」の生起を想定するならば、その脱分極に起因するスパイクの発生を期待してよいであろう。そのとおりに本実験において自発性スパイクが観察された、しかしそれは少数例にみられたに過ぎず、且ついずれも max. RP 到達後の phase に発生したもので、delay 期間中の発生はみられなかった。このことは既

述の Fig. 4 および5の所見と共に、上記の想定を困難にする。

かくて刺入時静置電位の発現経過は、長短いずれの場合も正常な経過であって、経過長き例を不良として廃棄するいわれ無しと考えざるをえない。この事は次に述べる補足実験の結果からも首肯されるであろう。

既述のように本実験における delay (平均 7.0 msec) は、類同の実験方法下に観察されたカエル有髄線維のそれ(平均 4.7 msec, 杉谷1969)

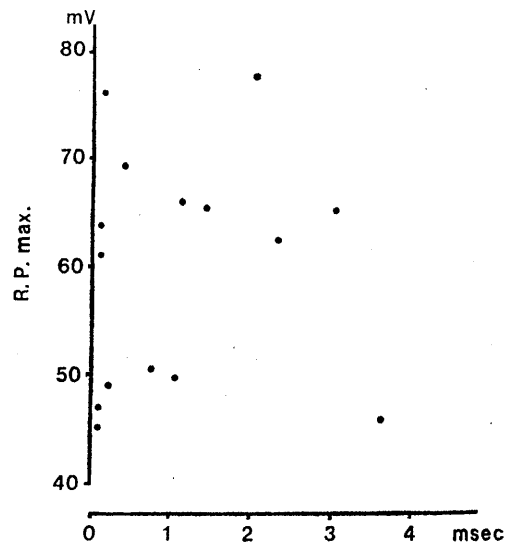


Fig. 6. Similar observations made with toad's sympathetic ganglion cells. The delay time is not significantly correlated with the final resting potential, just as in Fig. 4.

Table 1. Delay period of resting potential development in several types of cells

	Author	Diameter of cell	R.P.			Delay for 90 % R.P. max.	
			Average	No. of observation	Temp.	Range	Average
Myelinated nerve fibre (frog)	Sugitani (1969)	ca 8 $\mu$	61.5 mV	197	21°C	1 - 20.0 msec	4.7 msec (134)
Sympathetic ganglion cell (toad)	Endo (Present work)	ca 35 $\mu$	59.1 mV	15	24°C	0.1 - 3.6 msec	1.1 msec (15)
Sartorius (frog)	Endo (Present work)	ca 80 $\mu$	79.9 mV (50.4 - 98.8)	124	16 - 24°C	0.2 - 52 msec	7.0 msec (124)
Sartorius (frog)	Nastuk & Hodgkin (1950)		88 mV 84 mV	161 31	18°C 7°C	within a fraction of a millisecond	



よりもかなり大であった。このことから、delay 時間が細胞種としての相違、細胞構造の相違に関係があることが考えられる。Sarcoplasmic reticulum その他の複雑且つ不均一な微細構造をもつ sarcoplasm と、比較的簡単且つ一様な内部構造の axoplasm. よって著者は、さらに比較の対象として交感神経節細胞を探り上げ、同様な実験方法でその刺入時静止電位の変動を記録した。gamma, 第10交感神経節を中心として、第6神経節から坐骨神経本幹にわたって取出し、第10神経節を Fig. 1 の右側標本板上におき、その細胞体に刺入した(刺入細胞は15例全てB細胞であった)。使用電極の抵抗は17~123 MΩ。えられた結果を要約して Fig. 6 (delay と静止膜電位との関係) および Table 1 (他細胞の結果と併記) に示す。図に見るとおり delay はやはり静止電位の大きさに依存しなかった (Fig. 6). のみならず、範囲 (0.1~3.6 msec) においても平均値 (1.1±0.3 msec) においても筋線維より小であった (Table 1). 細胞体の大きさ (径約 35 μ) は筋線維の太さ (径約 80 μ) の 1/2 弱であるから、早期膜脱分極ありとすれば、その影響は神経細胞においてより強く現われるべく、したがって、より緩慢な経過をとるべきであると考えられるが結果はまさに逆であった。同様なことが有髄線維と筋線維との比較においていえる。

#### IV. 考 察

Artifact の考察: 本実験で取扱った静止膜電位発現経過に疑義ありとすれば、それは、筋細胞内の生理的電位の表示ではなくて、何らかの人工産物に由来するものではないかとの疑いであろう。えられた記録が、電極の筋形質膜貫通後数10ないし数100 msec のでき事、すなわち電極先端が未だ細胞内を動きつつある時期に関するものであるから、無理からぬ疑問といえる。人工産物の内容として考えられるのは、a) 電極の不完全 seal, それによる膜の脱分極, b) 刺入による筋線維 dimple の形成, c) 電極 tip potential である。a) についてはすでに述

べたように、静止電位の大きさとその90%レベル到達 delay との間の無相関性 (Fig. 4), 90%静止電位到達 delay の電極抵抗値無依存性 (Fig. 5), さらに補足実験として交感神経節細胞でみられた類同の関係 (Fig. 6) から考えて、これらの要因がその役割を演じているとは考えられない。b) 筋線維の dimpling は、先端口径 0.5 μ 以下の電極使用の場合はまず起こらないと思われるが (cf. Nastuk and Hodgkin 1950), 本実験では 1 MΩ の次序 (したがって大口径) の電極も多数使用せるゆえ多数例にかなりの dimpling をきたしたかも知れない (刺入時筋線維形態変化の顕微鏡検査は行なわなかった), しかしながらこれが電位記録に影響ありとすれば、それは電極先端が細胞外に在って膜を強く押しつけている時期においてであって、記録上は恐らく緩慢にして不規則な小電位変動として、本来の細胞内電位とは容易に区別されるのではなからうか。しかるに本実験ではこのような不規則電位の先行は記録されず、記録されたのは電極先端が明らかに膜を刺入してから後の電位であり、しかも速か (数10 msec 以内) にしてかつ規則的経過の電位であった。c) 電極 tip potential の影響。これが最大の疑問である。微小電極では、その充填用 KCl 溶液のいわば salt bridge 効果が失われ、周囲液との間にかかなりの拡散電位差を生ずる。これが tip potential (電極内 negative) であるが、恐らく毛細管内壁の陰性帯電のため、Cl<sup>-</sup> の移動速度が K<sup>+</sup> より小なることに起因するであろうといわれる。Küchler et al.<sup>15)</sup> (1964) によれば、tip pot. に影響する要因として、(1) 充填用 KCl 液の濃度-稀薄な程 tip pot. 小, (2) 電極抵抗-抵抗小 (先端口径大) なるほど tip pot. 小, おおよそ 10 MΩ で -5 mV 以下, 50 MΩ で -10 mV, 100 MΩ で -20 mV, (3) 電極周囲液-KCl 液内では同濃度の NaCl 液中より tip pot. 若干小, (4) 電極周囲液の pH, 電場 (静止膜電位), 電極先端と細胞内高分子物質との接触等が挙げられる。さて本実験においては、Ringer 液中の tip pot. は、電極電位差と共に補償されていた。したが

って問題は、細胞内刺入に際し tip pot. がどれだけ且ついかなる「時間経過」をもって増減したか、それによって細胞内電位記録をどれだけ且ついかなる「時間経過」をもって歪ませたか、である。定常状態で測られる tip pot. に関しては、上記要因のうち (3) 電極の細胞内多K液への移行および (4) 電極先端の細胞内高分子物質との接触なる因子が tip pot. を減ずる方向に作用し、(2) 刺入時電極先端のわん曲、したがって電極抵抗の増大、は逆にこれを増大する方向に働くであろう。が実際問題として、個々の刺入時に差引きどれだけ増減するかは明らかでない。加之、明らかになったとしても、それがいかなる「時間経過」で増減するかは、全く不明という他はない。過渡現象としての tip pot. については、参照すべきデータがないのである。かくて tip pot. が本実験の電位記録をどれだけ且つどのように歪ませているかは不明であるが、本実験ではそもそも tip pot. 小なる低抵抗 ( $1\text{ M}\Omega$  の次序) 電極を多数用いたから、此の種エラーの介入ありとしても結果の全般的解釈を誤らせる程ではないと考える。因みに心筋ないし Purkinje 線維の細胞内電位誘導に際し、beat 毎の電極 tip の動きは  $50\ \mu$  の次序といわれている (Draper and Weidmann<sup>16)</sup> 1951)。電極先端は細胞内で beat 毎に撓む (tip pot. は変動する) のではなからうか。にも不拘、記録される静止および動作電位には規則性と uniformity があり、それらしき tip pot. の影響はみられぬのである。

データの考察：刺入時膜電位の経過が人工所産でないとなれば、それは刺入経過中それぞれの部位における線維内の電位を、したがって細胞内不等電位性を表わすものと思される。注意すべきことに、静止電位の増大しつつある delay 期間中 (max. RP の90%レベルで測って平均  $7.0\ \text{msec}$ 、範囲  $0.2\sim 52.0\ \text{msec}$ 、124例) 電極先端は膜を貫いて細胞内を前進しつつある。いま90%レベル delay が  $20\ \text{msec}$  である例をとって、膜に transverse 方向の電極前進距離を計算すれば、刺入速度 ( $50\ \mu/\text{sec}$ ) と刺入

角度 (線維長軸に約 $45^\circ$ ) とよりおおよそ  $0.7\ \mu$  となる。このことは、膜内面を去る  $0.7\ \mu$  の細胞内一点において測った静止電位が、その最深値の90%である事を意味する。同様な計算を90%—delay の両極端  $0.2\ \text{msec}$  と  $52\ \text{msec}$  に対して行なえば、90%静止電位レベルの膜からの距離は全検査例 (124例) において、 $7\ \text{m}\mu\sim 1.9\ \mu$  の範囲にあったことになる。すなわちその下限 ( $7\ \text{m}\mu$ ) は多くの細胞の細胞膜の厚さ (Robertson<sup>17)</sup> 1960) の次序であり、上限 ( $1.9\ \mu$ ) は筋原線維2本の太さにはほぼ等しい。電極先端が必ずしも向中心軸的に刺入されずに線維周辺部をかすめる probability を考慮すれば、上限値はさらに小さな値をとると推定される。

最後に、本実験で観察された静止電位 (max. RP) が  $50.4\sim 98.8\ \text{mV}$  (平均  $79.9\ \text{mV}$ 、124例、Fig. 4 縦軸参照) の範囲にわたっていた事実は注目を要する。なぜなれば、記録された静止電位は刺入時のそれであり、この max. RP が記録されるまでの delay 期間中は、既述のように膜脱分極は起こっていないと考えられるのであるから、比較的低値の静止電位と雖もそれぞれ無疵な筋線維の、細胞内測定部位の電位を表わしているからなり。すなわち、静止電位は高値のものだけが真実のものではなく、低値細胞内電位をもつ線維もあるのである。線維によってこのように幅広き静止電位の variation がある理由として、線維の個体差のほかには部位差 (線維の中央か、末端部か) を考えうるが、本実験では追求するに至らなかった。細胞内不等電位と細胞微細構造との対応の問題と共に、今後の検索を要する課題と考える。

## V. 総 括

1. カエル縫工筋の静止膜電位を、電極刺入の初めから連続的に観察記録した。
2. 膜刺入後、細胞内電位が最終値の90%レベルに達する迄の delay 時間は、124例において  $0.2\ \text{msec}$  から  $52\ \text{msec}$  にわたり、平均  $7.0\pm 0.8\ \text{msec}$  であった (Fig. 3)。
3. この90% delay 時間の長短は、静止電位

最終値 (max. RP) と何ら相関関係をもたなかった (Fig. 4). また, 刺入電極の抵抗値 (電極口径の大小) にも依存しなかった (Fig. 5).

4. 補足実験として, ガマ交感神経節細胞についても上記 delay 時間と静止膜電位 (max. RP) との関係を検索したが, 両者間に相関は見られなかった (Fig. 6).

5. 他種細胞における同様な実験の結果と比較検討し (Table 1), また実験上のエラーを考察して, 刺入時膜電位の経過 (90% delay 平均 7.0 msec) が artifact に由来するものでないと考えられた.

6. 本実験における刺入時膜電位発現の delay 現象は, myoplasm 内の不等電位性を示すものと解された.

7. 本実験で測定された静止電位最終値 (max. RP) は, 50.4~98.8 mV (平均  $79.9 \pm 1.0$  mV, 124例) であった. この静止電位範囲のもつ意義について考察した.

終りに臨み, 終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った小西喜久治教授に衷心より謝意を表すものであります. またこの研究に対し種々御協力いただいた教職員各位に厚く御礼申し上げる次第であります.

#### 文 献

- 1) Katz, B. (1939) Electric Excitation of Nerve. Oxford University Press, London: Humphrey Milford.
- 2) Hodgkin, A. L. and Rushton, W. A. H. (1946) The electrical constants of a crustacean nerve fibre. Proc. Roy. Soc. B. **133**, 444-479
- 3) Hermann, L. (1879) Handb. Physiol. Band 2, Theil 1, Die Theorie der Elektrotonus: S. 171-184
- 4) Biedermann, W. (1896-8) Electrophysiology.

London: Macmillan and Co.

- 5) Cremer, M. (1899) Zum Kernleiterproblem. Z Biol. **37**, 550-553
- 6) Schaefer, H., Schölmerich, P. H. and Haass, P. (1938) Der Elektrotonus und die Erregungsgesetze des Muskels. Pflüg. Arch. ges. Physiol. **241**, 310-341
- 7) Katz, B. (1948) The electrical properties of the muscle fiber membrane. Proc. Roy. Soc. B. **135**, 506-534
- 8) Falk, G. and Fatt, P. (1964) Linear electrical properties of striated muscle fibres observed with intracellular electrodes. Proc. Roy. Soc. B. **160**, 69-123
- 9) Falk, G. and Fatt, P. (1965) Studies in Physiology. Springer-Verlag, New York, Edited by Curtis and McIntyre, 64-70
- 10) Saito, T. (1967) 筋分極の等価回路と型 日本生理誌 **29**, 468
- 11) Schanne, O., Kawata, H., Schäfer, B. and Lavallée, M. (1966) A study on the electrical resistance of the frog sartorius muscle. J. Gen. Physiol. **49**, 897-912
- 12) Sugitani, M. (1969) 有髄神経線維膜電位変化の細胞内記録 日本生理誌 **31**, 609-616
- 13) Nastuk, W. L. and Hodgkin, A. L. (1950) The electrical activity of single muscle fibers. J. cell. comp. Physiol. **95**, 39-73
- 14) Adrian, R. H. (1956) The effect of internal and external potassium concentration on the membrane potential of frog muscle. J. Physiol. **133**, 631-658
- 15) Küchler, G., Beyer, H., Himmel, M. und Merrem, B. (1964) Zur Frage der Übertragungseigenschaften von Glasmikroelektroden bei der intracellulären Membranpotentialmessung. Pflüg. Arch. ges. Physiol. **280**, 210-223
- 16) Draper, M. H. and Weidmann, S. (1951) Cardiac resting and action potentials recorded with an intracellular electrode. J. Physiol. **115**, 74-94
- 17) Robertson, J. D. (1960) The molecular structure and contact relationships of cell membranes. Progr. Biophys. biophys. Chem. **10**, 343-418

〔原著〕

有髓神経線維膜電位変化の細胞内記録 612.014.423

杉 谷 正 東\*

### Intracellular recording of membrane potential in the myelinated nerve fibres

Masaharu Sugitani (*The First Department of Physiology, Nippon Medical School, Tokyo*)

The resting and action potentials of frog myelinated nerve fibres were studied by using intracellular microelectrode. The change in membrane potential was recorded continuously from the moment before the impalement of microelectrode.

Mean values of the resting, action and reversed potentials were 61.5 mV (197 fibres), 73.5 mV (107 fibres) and 12.4 mV (107 fibres), respectively. The mean value of the maximum rate of rise of the action potential recorded from 60 fibres was 231 V/sec.

After the start of the microelectrode penetration into axon, a certain time as long as 4.7 msec in the mean (134 fibres) measured at 90% level was needed for the membrane potential to attain its final value. After the maximum resting potential was attained, it was decreased much faster than in muscle.

High calcium (4.2~30 mM) Ringer raised the resting potential by about 2~7 mV and depressed the subsequent depolarization.

By the application of hyperpolarizing current, action potentials of larger amplitude could be recorded for a long period of time. [J. Physiol. Soc. Japan (1969) 31, 609-616]

## I. 緒 論

有髓神経線維膜電位の細胞内導出は、すでにカエル坐骨神経について非分離線維で Woodbury<sup>1)</sup>, 分離線維で Tasaki<sup>2)</sup> により行なわれたが、線維が細く刺入による損傷を容易にうけるため、長期間の安定な電位記録に成功しなかった。クルマエビの巨大有髓線維の実験 (Kusano<sup>3)</sup>) は別として、中枢神経系内有髓線維から導出するときも (Eccles and Krnjević<sup>4)</sup>) この実験上の不利を免がれない。

本実験は、末梢神経の膜電位の細胞内記録を實際上可能ならしめる方策を見出すべく企てられた。そのため、電極刺入時の膜電位変動を連続的に記録し、電位消長を刺入直前から時間を追って検討する方法をとった。

えられた結果の一部、すなわち静止膜電位および活動電位の測定値は、Woodbury, Tasaki の知見の補足改良であるが、他に 2, 3 の新発見もえられた。

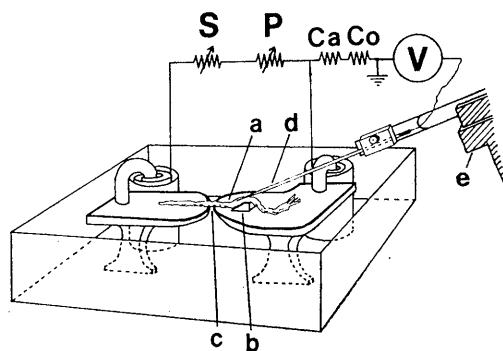


Fig. 1. Experimental arrangement for recording intracellular potential of myelinated fibre. (a) denotes a sciatic nerve, (b) a sloped polystyrene piece, (c) an air gap, 1.5 mm wide, (d) an internal electrode and (e) a micromanipulator; (S), (P), (Ca) and (Co) outputs of stimulating, polarizing, calibrating and compensating circuit, respectively; (V) negative capacity-coupled high input impedance preamplifier and cathode ray oscilloscope.

## II. 実験方法

実験材料はトノサマガエル (*Rana nigromaculata*) の坐骨神経の神経上膜を除去したものである。

\* 日本医科大学第1生理学教室  
〔昭和44年7月8日受付〕

標本箱 (Fig. 1) は、当教室で従来使用せる分離線維用空気間隙法装置に若干の改良を施したものである。すなわち線維走向に対する電極の刺入角度を小 (通常  $5 \sim 8^\circ$ ) ならしめるため、標本用小板上に、斜面をもつポリスチロール小片 (Fig. 1 b) を貼付した。

刺激は持続 0.1 msec 以下の直角パルスで、刺激および分極電流は空気間隙 (Fig. 1 c) を通して適用した。

微小電極 (3 M-KCl,  $10 \sim 100 \text{ M}\Omega$ ) に関して注意を払った点は次のごとくである。1) 電極直流抵抗を実験後にも測定し、刺入前の値と大差ある例は廃棄した。2) 電極の刺入は、大部分において、 $10 \sim 40 \mu/\text{sec}$  (空中測定) の低速度でおこなった。一部の試験では、 $300 \mu/\text{sec}$  あるいはそれ以上の高速度を用いた。3) 電位差および tip potential は前置増幅器からの出力電圧 (Fig. 1 Co) により、標本浸液中にて補償した。なお電位変動は既述のごとく電極刺入直前から“連続”撮影した。また一部の試験では、活動電位の最大立上り速度を時定数  $20 \mu\text{sec}$  の微分回路を通して直接記録した。

標本浸液は Ringer 液 (NaCl 111 mM, KCl 3 mM,  $\text{CaCl}_2$  2 mM,  $\text{NaHCO}_3$  1.2 mM) のほか高 Ca (4.2, 10, 30 mM)-Ringer 液——その浸透圧は NaCl 濃度の減少により調整——、および 0.3% クエン酸ソーダ-Ringer 液を使用した。その pH はいずれも  $7.3 \sim 7.4$ 、実験温度  $18 \sim 24^\circ\text{C}$  (室温) であった。

本実験において注意すべきことは、検査対象が“非分離”線維であるため、残念ながら線維の太さおよび刺入部位の選定ができなかったこと、したがって記録された電位がいかなる線維の、どの部位 (絞輪部、絞輪間部) の電位をあらわすのかについての確証がないことである。しかしながら筆者は、使用神経における各線維直径の分布を組織学的に検索し、その結果としてのヒストグラムから、大部分の軸索直径が  $7 \sim 9 \mu$  の範囲にあること、ならびに絞輪と絞輪間部の幅の比が  $1 : 1000$  以上であることなどから、大部分の実験は、 $7 \sim 9 \mu$  の有髓線維を対象と

し、電極はその絞輪間髄鞘部に刺入されたと考えられる。

### III. 結果ならびに考察

神経束刺激下、電極刺入に伴って観察される膜電位変動を Fig. 2 に示す。初めに浅い陰性電位の漸増があり、ついで急に深い膜電位に移行する (a, b)。この移行時点以後は移行前と異なり大きな活動電位が記録される。したがってこの時点は、電極先端の軸索内移行を示すと考えられる (b の矢印)。膜電位はその後若干の時間的遅れを経て最大値に到達し、以後漸減し、それに伴ない活動電位の変形縮小がみられる (c~f)。なお電極の軸索内移行直後にしばしば“自発性”スパイク (b の矢印に続く活動電位) が観察された。

#### A. 静止膜電位

1. 大きさ。軸索内静止膜電位の最大値 (以下 max. RP と略記) は、線維毎にかなりの範囲 ( $33 \sim 113 \text{ mV}$ ) にわたって相異し、197例の平均値は  $61.5 \pm 0.9 \text{ mV}$  (Fig. 3) で Tasaki の報告による  $0 \sim 30 \text{ mV}$  や Woodbury の測定値  $56 \text{ mV}$  より大きく、他種細胞との比較では Weidmann<sup>5)</sup> によるカエル心室筋の静止膜電位  $58 \sim 65 \text{ mV}$  に近似していた。

この max. RP に対する外液 Ca の影響を調べた結果を Fig. 3 のヒストグラムに示す。 $4.2 \sim 30 \text{ mM}$  Ca-Ringer 液ではその分布が全体として右方に変位し、平均値が  $2 \sim 7 \text{ mV}$  増大した。 $0.3\%$  クエン酸ソーダ-Ringer では逆に左方に変位して平均値は約  $9 \text{ mV}$  減少した。

2. 経過。刺入時の電位経過は筋線維のそれと相異していた。第一に、筋線維では電位経過が急で、静止膜電位の 90% レベル到達に数分の  $1 \text{ msec}$  とかからぬ (Nastuk and Hodgkin<sup>6)</sup>) と云われるのに対し、有髓線維ではその経過は甚だ緩慢で、Fig. 2 b にみられるごとく、電極の軸索内移行時から max. RP の 90% 値到達までに約  $4 \text{ msec}$  あるいはそれ以上の遅れを示し、134例の平均で  $4.7 \text{ msec}$  であった。100% max. RP 到達には 134例平均で実に  $31.3 \text{ msec}$  を要

したのである。

第二の相異点は、max. RP 到達後の電位減衰が到達前の経過と逆に甚だ急であることである。有髄線維では、軸索内刺入後1分間に10~30 mVの静止電位の減衰がみられた (Fig. 2 b, c)。一方筋線維での脱分極は1 mV/minの程度であると云う (Nastuk and Hodgkin)。

以上の刺入時電位経過の特徴のうち、第一のもの、すなわち静止膜電位の遅い発現という所見は、細胞内電位に関する重要な問題 (細胞内不等電位性) に関係するので、後に項を改めて採り上げることにする。

B. 活動電位

空気間隙を介して、刺入部に近い神経束を電気刺激することにより、活動電位が容易に導出される。その他“自発性”スパイク、逆転電位なしのスパイク、あるいは低い静止電位に乗るスパイク等がしばしば観察されたが、これらは正常でないものと考えて対象としなかった。

活動電位の大きさは、max. RP と同じく標本によりかなり広い範囲 (45~115 mV) の変動を示し、107 例平均は  $73.5 \pm 1.3$  mV であった (Fig. 4)。スパイク発生時点の静止電位は平均  $60.1 \pm 1.2$  mV (両平均値の比は1.2) で、これと活動電位との間には統計的に高度に有意の相関 (相関係数 0.80,  $n=107$ ,  $P < 10^{-9}$ ) があった。ちなみに Woodbury の報告では、両者の相関係数 0.48,  $P < 10^{-3}$  である。なお比較のため、従来種々の方法で

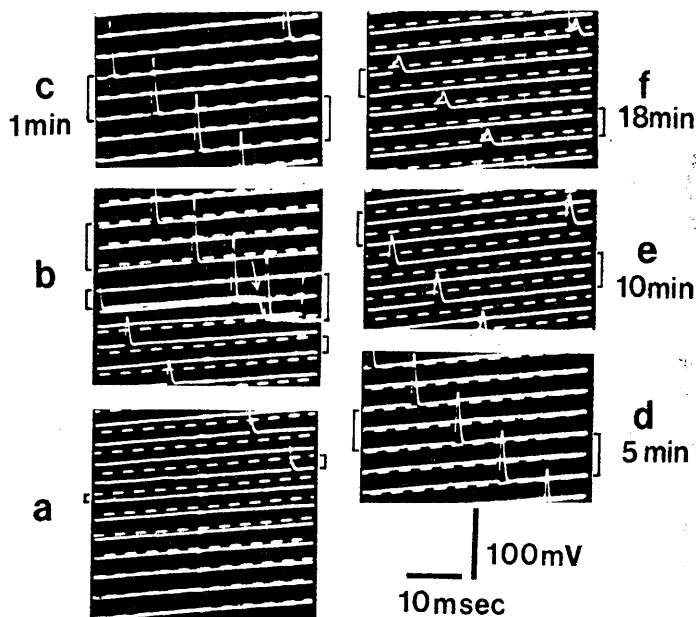


Fig. 2. Membrane potential change recorded continuously during electrode advancement (see from below, upwards). Arrow in record b indicates beginning of axonal penetration. Only the first spike following the arrow was initiated "spontaneously", others were "evoked" by electrical stimuli. Figures on either side of records indicate the time (in minute) after the penetration started in record a. Hookmarks show two corresponding traces of the reference and resting potential. Microelectrode was introduced initially at a speed of about  $20 \mu\text{/sec}$ , and stopped properly in the axon.

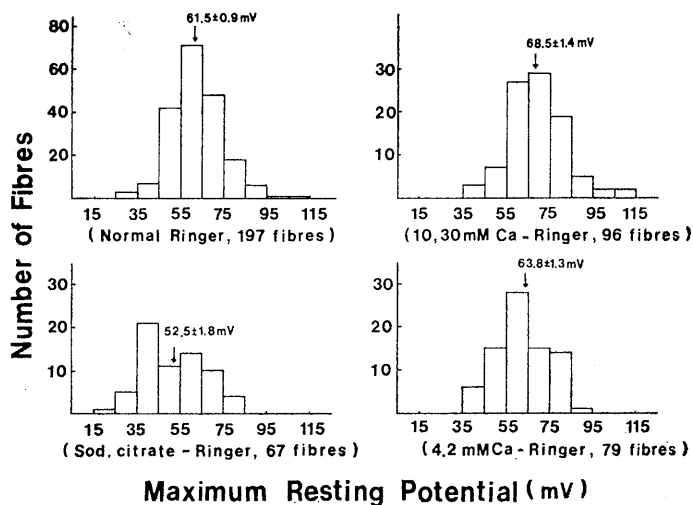


Fig. 3. Distributions of maximum resting potentials measured in normal, low Ca and high Ca Ringer's solution respectively. Mean value are marked by arrows.

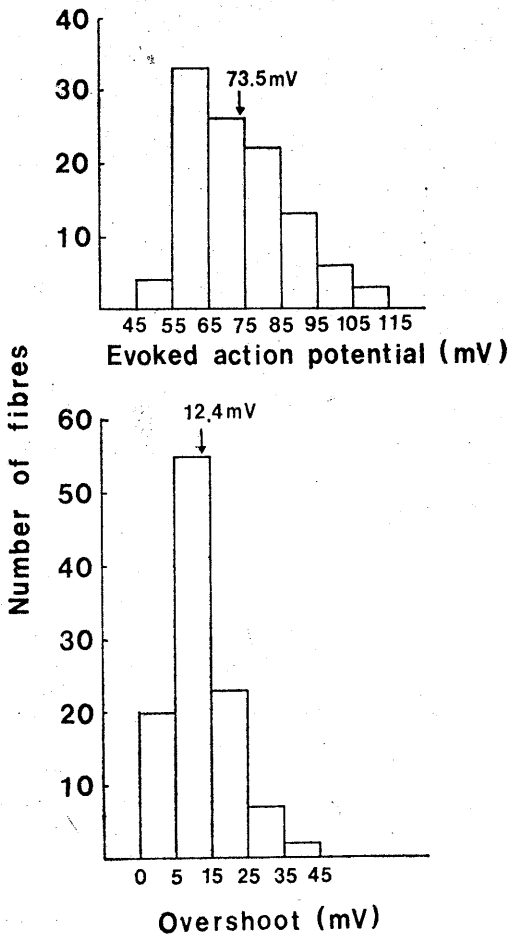


Fig. 4. Distributions of evoked action potentials and overshoots (normal Ringer, 107 fibres). Arrows indicate mean values.

測定された有髓線維の活動および静止電位を Table 1 に示す。前記活動電位の平均値が分離線維 (gap 法) による観測値に比し低いことが、判るが、その理由は既述のごとく本実験では神経線維の太さ、刺入部位が無選択であることと共に、低い値の活動電位の記録を除外していないことによるであろう。

逆転電位の範囲は 0.7~38.5 mV, 107例の平均は  $12.4 \pm 0.8$  mV であった。またスパイクの最大立上り速度の範囲は 108~565 V/sec, 60例

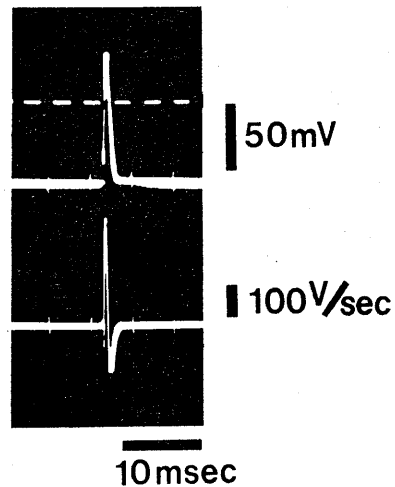


Fig. 5. Simultaneous recording of an action potential (upper trace) and its rate of rise (lower trace). Broken line represents the reference potential.

Table 1. Values of the action and resting potential of myelinated nerve fibres

	method	number of measurements	mean value or range (mV)		material
			R. P	A. P	
Huxley, Stämpfli <sup>7)</sup> (1951)	potentiometrical recording	9	71	116	frog sciatic, isolated single fibre
Tasaki, Frank <sup>8)</sup> (1955)	gap method	7		$101.6 \pm 4.8$ (97~110)	bull frog sciatic isolated single fibre
Woodbury (1952)	intracellular recording	17	56 greater than 30 mV	73	frog sciatic, nerve trunk
Tasaki (1952)	intracellular recording		0~30	less than 30~40	frog sciatic, isolated single fibre
Sugitani (1969)	intracellular recording	197	$61.5 \pm 0.9^*$ (33~113)		frog sciatic, nerve trunk
		107	$60.1 \pm 1.2^{**}$ (32~103)	$73.5 \pm 1.3$ (50~110.4)	

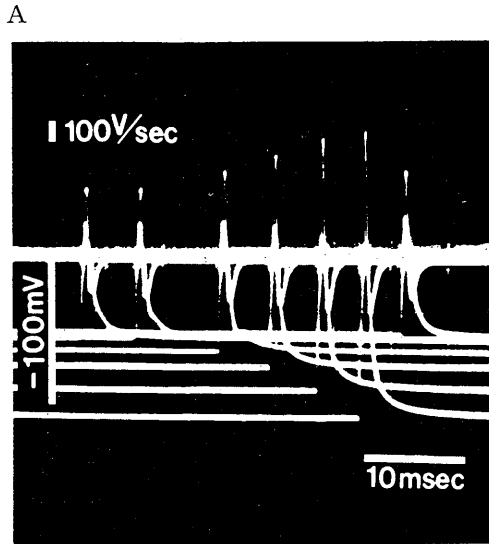
\* The maximum resting potential.

\*\* The resting potential measured for each spike.

の平均は 231 V/sec であった (Fig. 5).

C. 過分極作用の効果

過分極電流の活動電位およびその最大立上り



B

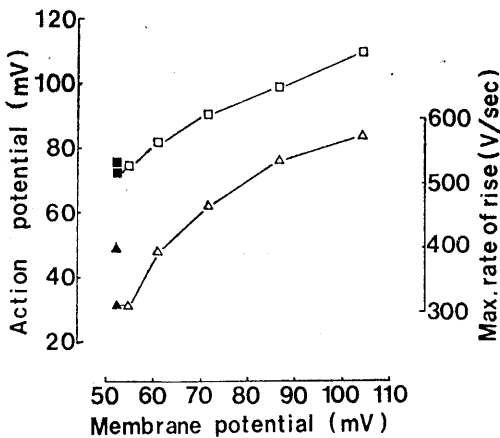


Fig. 6. Effect of membrane hyperpolarization upon action potential amplitude and maximum rate of rise. Above: Simultaneous superimposed records of spike and rise rate. The membrane potential of initially 50 mV was increased to various levels by applying currents of different intensity each stimulus. Below: Graphs taken from upper records, to show dependence of action potential (square, left scale) and maximum rise rate (triangle, right scale) upon membrane potential. Filled symbols refer to the final spike in the records, taken as control with the first.

速度におよぼす影響をみた結果の代表例を Fig. 6 に示す. 正常 Ringer 液中で刺入後およそ 1 分から 2 分にかけての記録で, 同一線維で単掃引重複記録である. 図に明らかなごとく,  $-70$  mV 以上の膜電位に対して逆転電位は減少するが, 活動電位の振幅および最大立上り速度は, 膜の過分極と共に増大し, 膜電位およそ  $-105$  mV に対してそれぞれ 110 mV, 570 V/sec に達した. この結果は, 有髓線維スパイクの細胞内導出に対して適度の過分極適用はなはだ効果的であることを示す. 事実, 刺入数分後に膜電位が  $-20 \sim -30$  mV に低下したものにおいてもこれを  $-70 \sim -80$  mV に回復させれば, 変形縮少していた活動電位も正常の大きさとなり 1 時間以上にわたって記録しうる. この場合外液高 Ca の前処置を併用すれば結果はさらに良好であった.

すなわち有髓神経線維細胞内導出を長時間にわたり安定, 可能ならしめる要因が, 外液 Ca の増量 ( $30 \sim 40$  mM) と過分極電流適用 (膜電位  $-70 \sim -80$  mV) とにあることを知る.

D. 静止膜電位発現の時間的経過

以上によって, 本実験所期の目的は達せられ

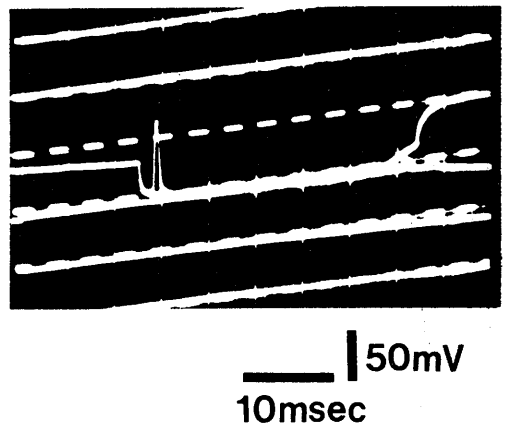


Fig. 7. Membrane potential development, observed during the penetration at a high speed (about  $900 \mu$ /sec). Broken and continuous lines represent the reference and intracellular potential respectively. Note a marked delay of 1.5 msec for the 90%, and of 18 msec for the final value, of the resting potential.



たのであるが、実験経過中にもかかわらず一問題に逢着した。既述のように、刺入時軸索内静止電位が発現記録されてからその最大値に達するまでに、意外と長い時間 (90%レベルで 4.7 msec, max. RP で 31.3 msec) を要したことがある。刺入速度を 900  $\mu$ /sec 以上と甚だ大ならしめて電極先端が短時間に軸索を貫通してしまうような例においても、max. RP の90%到達

に要する時間は 1.5 msec 以下にはならなかった (Fig. 7)。

このように長い所要時間は、刺入による人工産物、たとえば電極不良、不完全 seal、膜脱分極などに由来するものでなければ、有髄神経線維内の電位分布が不等であることの表示ではないかと考えられる。

本実験では不良電極および不規則電位変動の

例は除外したし、また、もしもこの遅い膜電位発現経過が膜の脱分極の表われであるならば、その脱分極の度、したがって記録にかかる max. RP の大きさは max. RP に至る時間の長短、あるいは使用電極の口径の大小または電極直流抵抗に依存するであろう。しかるに事實は Fig. 8 および Fig. 9 にみるごとく、max. RP はそのどちらにも相関関係をもたなかった。さらに、この遅い膜電位経過は標本の高 Ca 処理によって、その所要時間を短縮することはできなかった (Fig. 10)。外液高 Ca は確かに、max. RP 到達後の膜脱分極を防止する作用があったが、問題のプロセスには効果をもたらさなかったのである。それゆえ、刺入直後の膜電位が比較的ゆっくりと増大しつつある時期においては、膜の脱分極は未介入であると考えられる。

人工産物性の原因としてもう一つ考慮を要するのは、Adrian<sup>9)</sup>、Küchler<sup>10)</sup>、谷国・藤本・川端<sup>11)12)</sup>等の報告した電極 tip potential の影響である。本実験においては Ringer 液中での tip potential は、電極電位差とともに補償されており、したがって問題となるのは、細胞内

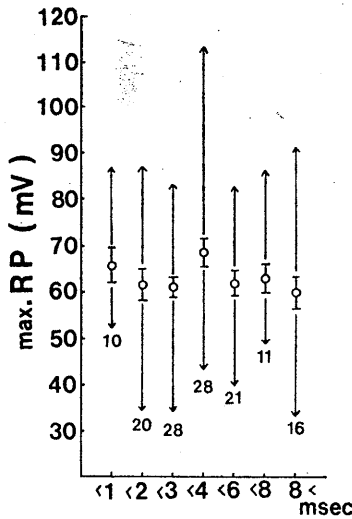


Fig. 8. Relation between the maximum resting potential (max. RP) and its time for the 90% level of the max. RP. No statistically significant correlation was found between them. Arrows, bars and hollow circles represent the range, the S. E. of mean and the mean of max. RPs, respectively. Numbers of observations are given below.

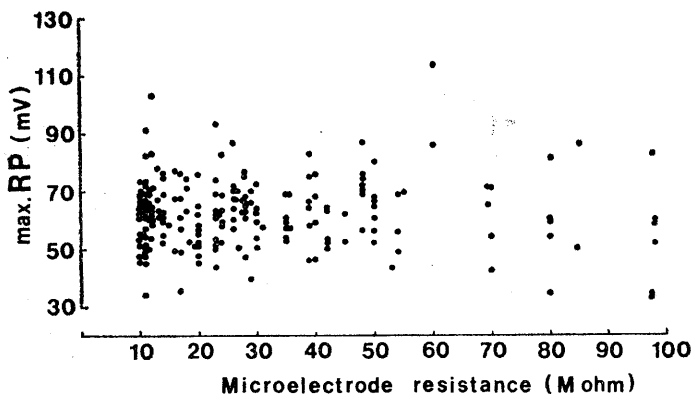


Fig. 9. Maximum value of resting potential (max. RP) plotted against DC. resistance of microelectrode. No statistically significant correlation was found between them.

刺入によって tip potential がいかに変わるかであろう。その変化の時間経過が、問題の静止膜電位発現の遅れとなったのではないか、という疑問である。さて、定常状態で測られる tip potential に関しては上記諸家の研究があるが、刺入という過渡期に、すなわち電極先端が曲がりながら膜を貫いて細胞内メディウムに接触し、かつ細胞内を前進移動しつつあるときに、tip potential がいかなる時間経過をもって変化するか、については全く不明というほかはない。この問題は今後別箇の検索を要するが、近時、筋線維における刺入時細胞内電位の経過を追求した遠藤<sup>13)</sup>によれば、tip potential の影響は重要視されないという。かくて、max. RP 発現にいたるまでの長い所要時間が、電極刺入にともなう人工産物に由来するとは考え難く、目下のところはむしろ軸索原形質内の電位分布が不平等なためと考えられるのである。なお、これについて直接決定的な結論は、今後の追求を待つこととする。

#### IV. 総 括

1. 微小電極法によるカエル有髓神経線維軸索内誘導をおこない、特に電極刺入直前より膜電位変化を連続的に記録した。
2. 静止膜電位、活動電位および逆転電位の平均値はそれぞれ 61.5 mV (197例)、73.5 mV (107例)、12.4 mV (107例) であった。活動電位の最大立上り速度の平均は 231 V/sec (60例) であった。
3. 静止膜電位は電極先端が軸索内に移行後若干の時間的遅れをもってその最大値に到達し、その後筋線維の場合と比較して、かなり速かに漸減した。最大静止膜電位の90%レベル到達に134例平均で4.7 msecの時間を要した。
4. 外液 Ca の増量 (4.2~30 mM) は最大静止膜電位の平均値で約2~7 mVの増加をもたらし、膜の脱分極を抑制した。
5. 過分極電流の適用は長時間記録に甚だ効果的であった。

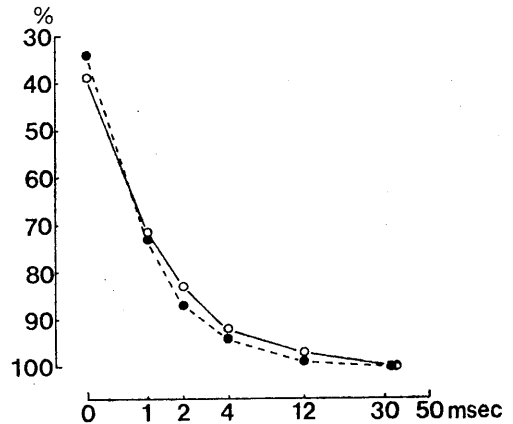


Fig. 10. Time course of resting potential development during penetration, examined in normal (hollow circles) and high calcium (filled circles) Ringer's solutions. Ordinate: potential in percentage of max. RP. Abscissa: time after axonal penetration. The results averaged from six or seven preparations of which max. RP. was between  $61.5 \pm 0.9$  mV. No significant difference between two curves.

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った小西喜久治教授に深甚なる謝意を表します。

#### 文 献

- 1) Woodbury, J. W. (1952) Direct membrane resting and action potentials from single myelinated nerve fibers. *J. cell. comp. Physiol.* **39**, 323-339
- 2) Tasaki, I. (1952) Properties of myelinated fibers in frog sciatic nerve and in spinal cord as examined with micro-electrodes. *Jap. J. Physiol.* **3**, 73-94
- 3) Kusano, K. (1966) Electrical activity and structural correlates of giant nerve fibers in Kuruma Shrimp (*Penaeus japonicus*). *J. Cell. Physiol.* **68**, 361-384
- 4) Eccles, J. C. and Krnjević, K. (1959) Potential changes recorded inside afferent fibres within the spinal cord. *J. Physiol.* **149**, 250-273
- 5) Weidmann, S. (1956) *Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser*. Tabelle 1, Hans Huber, Bern.
- 6) Nastuk, W. L. and Hodgkin, A. L. (1950) The electrical activity of single muscle fibers. *J. cell. comp. Physiol.* **35**, 39-73
- 7) Huxley, A. F. and Stämpfli, R. (1951) Effect of potassium and sodium on resting and action potentials of single myelinated nerve fibres. *J. Physiol.* **112**, 496-508
- 8) Tasaki, I. and Frank, K. (1955) Measurement of the action potential of myelinated nerve fiber

- Am. J. Physiol. **182**, 572-578
- 9) Adrian, R. H. (1956) The effect of internal and external potassium concentration on the membrane potential of frog muscle. *J. Physiol.* **133**, 631-658
- 10) Küchler, G. (1964) Zur Frage der Übertragungseigenschaften von Glasmikroelektroden bei der intracellulären Membranpotentialmessung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **280**, 210-223
- 11) 谷国勝美・藤本勝喜・川端五郎 (1965) 細胞内電位値の検討 I. 銀・塩化銀電極の単極電位差 II. 微小電極の液間起電力 *日本生理誌* **27**, 446-453
- 12) 谷国勝美・藤本勝喜・川端五郎 (1965) 細胞内電位値の検討 III. 蛋白溶液の液間起電力 *日本生理誌* **27**, 454-462
- 13) 遠藤昭伸 (1969) 微小電極刺入時におけるカエル骨格筋静止電位の発現経過 *日本生理誌* **31**, 601-608



〔原著〕 K 電極によるアスパラギン酸カリウム塩の  
Kイオン活量の測定 612.014.421 : 612.463.5

細胞内電位測定による腎尿管機能 特にアスパラギン酸塩の影響 第3報

檜 垣 鴻\*

**Determination of the potassium ionic activity of potassium aspartate solution by using the potassium sensitive glass electrode. An electrophysiological study of the effect of L-potassium aspartate on renal tubular function of the rat (III)**

Koh Higaki (*The First Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine*)

The ionic activity of  $K^+$  in potassium aspartate solution and potassium chloride solution in the same molal concentration was estimated with a potassium sensitive glass electrode.

The potassium activity of potassium aspartate solution was significantly lower than that of potassium chloride solution, probably due to a special binding of  $K^+$  by aspartate.

The apparent chelate stability constant of potassium aspartate was calculated from potassium ionic activity determined with the potassium sensitive glass electrode, and its value, 2.66 was obtained.

It is suggested from the above results that the physiological effect of K-aspartate which is far more remarkable than the mixture of KCl and aspartic acid, is connected with the above mentioned specific binding of aspartic acid radical with  $K^+$  in K-aspartate.

[J. Physiol. Soc. Japan (1969) 31, 617-626]

緒 言

中間代謝産物あるいはアミノ酸のあるものは外的に投与された際、腎尿管細胞電位に一定の影響を与え、しかもそれが腎組織内の電解質輸送におよぼす効果であることは、すでに第1報<sup>1)</sup> および第2報<sup>2)</sup> に明らかにした所である。その際、特にピルビン酸やアスパラギン酸ならびにリンゴ酸等は尿管細胞膜電位を著明に増し、腎細胞内K濃度上昇ならびにNa濃度の下降をおこさせる作用が強く、これがあたかも副腎皮質ミネラルコルチコイド作用に似た働きであることから、同ホルモンの尿管電解質輸送機序は、尿管細胞における上記基質の代謝との関連において論ずべきであるとの結論に達した。すなわち、副腎摘出動物や皮質ホルモンの分泌阻害剤を投与した動物ではこれらの代謝基質の作用はみられなくなることから、代謝基質

の作用が現れるためには副腎皮質ミネラルコルチコイドの存在が必須であると結論した。具体的にいえば、これらのアミノ酸を投与した場合に、これは腎細胞にとりこまれた上、それにミネラルコルチコイドが働いて腎細胞膜のNa-K交換ポンプの熱源の一部として利用されるものと考えられた。

また、動物にアスパラギン酸を投与する際、単にアスパラギン酸と塩化カリウムを混合したものよりも、アスパラギン酸カリウム塩単独として与えた方が、上記の尿管に対する効果の大であることが第2報<sup>2)</sup> で認められた。また、Laborit<sup>3)</sup> や Nieper<sup>4)</sup> らは心筋などにおいて上記と類似の現象の存在について言及しているが、そのメカニズムについては何もふれていない。しかし、その理由は従来全く不明とされている。著者はこのようなアスパラギン酸と塩化カリウムの混合物と、アスパラギン酸カリウム塩単独の作用の相異は、この塩が、普通のアルカリ塩のようにイオン結合の形でなく、何か

\* 京都府立医科大学第1生理学教室  
〔昭和44年6月5日受付〕

別の結合をしたものと理解するより外ないと考えた。そして、アスパラギン酸塩が細胞内に入っていく過程、または、細胞内で利用される過程においてこのKとアスパラギン酸の結合状態が重要な役割を果すものと考えた。しかし、この考え方を根拠づけるためには、先ずアスパラギン酸と塩化カリウムの混合物と、アスパラギン酸K塩単独の物理化学的な結合状態に差のあることを立証する必要がある。これが本研究を計画した理由であって、アスパラギン酸塩の物理化学的性質を *in vitro* において  $K^+$  活量の測定によって追求せんとしたのである。

### 実験方法

実験としては、K電極によってL-アスパラギン酸のK塩 (K-aspartate) のKイオン活量を測定することにより、アスパラギン酸塩のイオン化状態の推測を行なおうとした。しかし、実際には、単なる  $K^+$  活量測定のみにては、それは不可能であるから、著者は KCl をアスパラギン酸にて滴定し、その  $K^+$  活量の変化をK硝子電極により求めて、これよりアスパラギン酸と  $K^+$  とのキレート安定度常数を算出した。また、ペーパークロマトグラフィーでアスパラギン酸と KCl の混合液 (KCl+Asp.) と K-aspartate の両液を展開分析して両者の差を求めたことにした。

Kのイオン活量ならびにその滴定を行なうための電極としては、ベックマン製K硝子電極を用い、この電位差測定のために組立てた電池系中の接合液 (ブリッジ溶液) としては、拡散電位差の最も少ない 3 M RbCl 寒天を用いた。

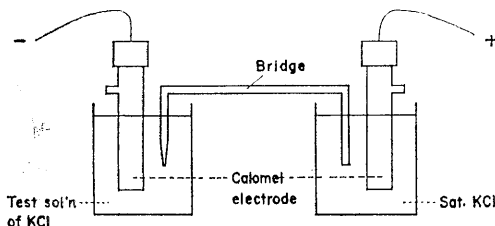


Fig. 1. Arrangement of electrode system to estimate the diffusion potential.

ただし、これには、一般に KCl 飽和溶液のみを使用するのが普通であるが、問題は、 $K^+$  活量の測定であるから、ブリッジ溶液によって被検液のK濃度が影響される恐れがある。そこで先ずブリッジ溶液の検討を行なった。一般にブリッジ溶液としては、陽、陰イオンの易動度 (ionic mobility) のほぼ等しい塩の高濃度の溶液を使用して、その拡散電位の消却を行なうことが多い。このような陽、陰イオンの易動度の互いに近い塩としては、7種の塩が考えられるので、先ずこれらの液でブリッジ溶液を作り、これを用いてその拡散電位について調べた。尚、使用したブリッジ溶液と、その濃度は次のようである。

ブリッジ溶液：① 3 M RbCl, ② 飽和  $NH_4Cl$ , ③ 3 M KCl, ④ 3 M  $NH_4NO_3$ , ⑤ 3 M  $NH_4I$ , ⑥ 3 M LiI および ⑦ 10%  $KNO_3$

ブリッジ溶液の調製は、上述の各種化合物を 10 ml の蒸留水に溶解して、それらに、それぞれ粉末寒天を 3% の割合に添加して加熱溶解する。一方、外径 3 mm, 内径 2 mm のビニール管を 30 cm 程度用い、その先端に内径 1.5~2 mm の毛細ガラス管を 3 cm 程度外方へつきだしたものを作り、この中に注射筒で前記寒天溶液の凝固しない内に吸引して、前述のビニール管中にその溶液を満す。それを室温に静置して寒天が充分凝固してから使用する。

拡散電位の測定方法は、Fig. 1 に示すように甘汞電極対甘汞電極の間にブリッジ溶液を置き、その間の電位差を測定した。

Fig. 1 の左側の KCl 溶液はいろいろの濃度の液をおく。そして、ブリッジ溶液として、この被検 KCl 溶液の濃度によって拡散電位が影響せられる事の少ないもの、また電位差の平衡が速やかに達するようなブリッジ溶液を選定しようとした。各種濃度の KCl 溶液の調製は、飽和  $Ca(OH)_2$  に KCl を 1,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  および  $10^{-4}$  M に溶解して行ない、それぞれの溶液について拡散電位を測定した時に示す電位の最大値より最小値を差引いた値 (絶対値) を偏差とした (Table 1 の最後欄)。

Table 1 から明らかなように、用いるブリッジ溶液によって、拡散電位の発生が異なり、その電位変化の絶対値は 3 M RbCl で KCl 濃度の変化に基く偏差は 0.9 mV を示し、3 M LiI に至っては、34.1 mV と可成り大きい拡散電位の発生が認められた。

以上のように拡散電位は、ブリッジ溶液に使用する各種化合物の陽、陰イオンの易動度<sup>5)</sup>によって変化するため、ここに陽、陰イオンの易動度と前掲の拡散電位の実測値よりの偏差との関係をみた。拡散電位の偏差とブリッジ溶液の陽、陰イオンの易動度およびその差を一括して Table 1 に示してある。すなわち、表から明らかな如く、一般に陽、陰イオンの易動度の値の接近しているもの程、拡散電位の偏差が小さいことがわかる。したがって、使用したブリッジ溶液中で、3 M RbCl が最も優れているといえる。

また、本電極に対する K<sup>+</sup> 以外のイオンの干渉としては、主として H<sup>+</sup> と Na<sup>+</sup> が考えられる。これらのイオンの影響は用いる電極によって差があり、一般的に一定したものとはいえない。そこで、これらのイオンの干渉について検討することにした。その結果、H<sup>+</sup> の場合は、pH 6 以下の溶液では K<sup>+</sup> 活量の低いもの程、また pH の低い溶液程、理論起電力と測定電位の差（これを偏倚電位と呼ぶ）が大きくなる。しかし pH 5 以上では、0.001 M の K<sup>+</sup> 濃度の溶液についての誤差は 6.2 mV 以下であった。一方、Na<sup>+</sup> の場合は、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> が大きくなるにつれて K のよみの誤差は大きくなり、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> = 1 の場合には、0.0093 V 以下の偏倚電位差を生じ、この値が K のよみの誤差に相当する。Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> < 1/10 の場合には、偏倚電位差は 0.0057 V 以内、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> < 1/100 の場合には、0.0005 V 以内になる。これを K 濃度に換算すれば、約 1.02 倍、すなわち、約 2% の誤差に相当するから、仮りに Na<sup>+</sup> 濃度が K<sup>+</sup> 濃度の 1/100 以下の場合には真の値の 2% の誤差範囲

Table 1. Ionic mobility of various cations and anions, and deviation of diffusion potential

Bridge solution	Mobility <sup>a</sup>		Defference of mobility between cation and anion	Deviation of diffusion potential
	Cation	Anion		
3 M RbCl	Rb <sup>+</sup> 77.8	Cl <sup>-</sup> 76.35	1.45	0.9
10% KNO <sub>3</sub>	K <sup>+</sup> 73.50	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 71.46	2.04	2.8
Sat. KCl	K <sup>+</sup> 73.50	Cl <sup>-</sup> 76.35	2.85	3.2
3 M NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 73.5	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 71.46	2.04	8.8
3 M NH <sub>4</sub> I	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 73.5	I <sup>-</sup> 76.8	3.30	12.7
Sat. NH <sub>4</sub> Cl	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 73.5	Cl <sup>-</sup> 76.35	2.85	17.1
3 M LiI	Li <sup>+</sup> 38.6	I <sup>-</sup> 76.8	38.20	34.1

<sup>a</sup> R. A., Robinson, R. H., Stokes, *Electrolyte Solutions* Butterworths Scientific Publications. London p. 463 1959

内に K<sup>+</sup> 活量、ひいては K 濃度を正確に求めることになる。

さて、以上の如き特性を有する K 電極を使用して、K-aspartate の K<sup>+</sup> 活量を測定し、著者が、先に報告<sup>2)</sup>した K-aspartate および KCl+Asp. の投与による生理作用の差をアスパラギン酸と K<sup>+</sup> の結合状態から究明せんとした。そこで両溶液の K<sup>+</sup> 濃度を等しく置いた場合の K<sup>+</sup> 活量を上記の K 電極で測定して互に比較しようと試みた。

元来、K-aspartate はその合成途上で、アスパラギン酸 (pH 3 以下) と KOH を混合して中性液として作ったものである。これに対して KCl+Asp. は pH 3 程度の酸性溶液であるからこれを上記の中性液とそのまま比較すると pH の影響が現われてくる。だからといって、アスパラギン酸に KOH などの強アルカリで中和しようとする、やがては K-aspartate が生じて、KCl+Asp. と K-aspartate の比較という主目的を逸することになる。ゆえに pH の影響は別途考慮することにして、次のように、K-aspartate 単独と KCl の間で互に K の等濃度の条件で K<sup>+</sup> 活量を比較することとした。

すなわち、被検液として、15.25 mM 濃度の KCl 溶液 (pH 6.5, 10 ml) を 15.25 mM のアスパラギン酸溶液 (本溶液の K 電極に対する pH の影響をなくすため、予め、飽和 Ca(OH)<sub>2</sub> 溶

液で中和しておく)で滴定し、他方 15.25 mM KCl 溶液をこのアスパラギン酸溶液と同容積の純水で順次稀釈して行き、これを対照として、それぞれ両者を  $K^+$  に関して等濃度においた場合の両溶液の  $K^+$  活量を測定した。尚この際、KCl の 15.25 mM 濃度を用いたのは、アスパラギン酸の 25°C における水に対する溶解度が約 0.5%、すなわち、mM/l 単位に換算すると 38.2 mM 濃度の割合で水に溶けるから、本溶液を飽和  $Ca(OH)_2$  で中和するとアスパラギン酸の最終濃度が丁度 15.25 mM となったからである。このようにして、アスパラギン酸の最も高い濃度の溶液を用いた。この場合、 $K^+$  とアスパラギン酸が 1 対 1 の結合を行なう可能性も考慮して、その場合にも、 $K^+$  活量が対照液と明瞭に差異が付き易いことを考えて行なったものである。

次いで  $K^+$  活量の計算にあたっては、 $Ca(OH)_2$  の  $K^+$  活量に対する影響を考慮に入れて、次に示す Robinson 式<sup>5)</sup> を用いて活量係数  $r$  を算出した。

すなわち、

$$\log r_{\pm} = -\frac{A/Z_1 \cdot Z_2 / \sqrt{I}}{1 + B_a \sqrt{I}} - \frac{h}{v} \log a_A - \log [1 + 0.001 W_A (v-h) m]$$

但し、

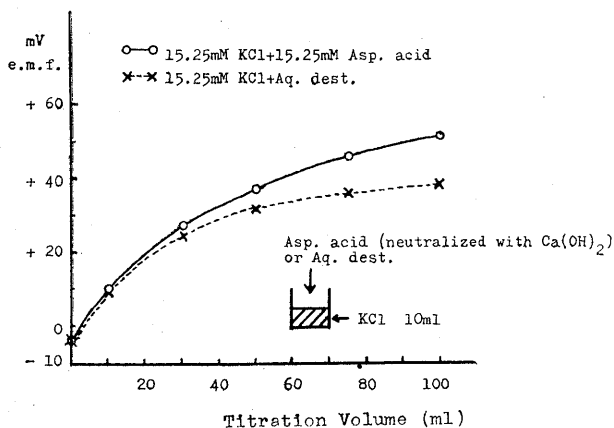


Fig. 2. Potentiometric titration of aspartic acid in the presence of KCl with K-sensitive electrode.

$A$ : Debye-Hückel 恒数

$Z$ : 陽、陰イオンの原子価

$I$ : イオン強度 (ionic strength),

$$I = \frac{1}{2} \sum C_i \cdot Z_i^2$$

$h$ : イオンに水和する水分子数 (hydration number)

$v$ : 電解質 1 モルから形成されるイオン粒子のモル数

$a$ : イオンの平均直径

$W_A$ : 溶媒 (solvent) の分子量

$m$ : モル濃度 (molality), 溶媒 1,000 g に対する溶質のモル数

$B$ : イオンサイズに関する Debye-Hückel 恒数

$a_A$ : モル分割 (mole fraction)

mole fraction =

$$\frac{\text{水モル数}}{\text{KCl モル数} + \text{Ca(OH)}_2 \text{ モル数} + \text{水モル数}}$$

$C_i$ : 濃度

$Z_i$ : 陽、陰イオンの原子価

また、ペーパークロマトグラフィーによる K-aspartate と KCl+Asp. の差の分析にあたっては、溶媒として、iso-propyl alcohol, ethanol および水をそれぞれ 3:4:3 の割合の混合液 (pH 6) を使用した。その展開時間は 20°C 15 hrs であった。この場合、K とアスパラギン酸の検出には sodium cobaltinitrite および Ninhydrin を用いた。

### 実験成績および考察

KCl をアスパラギン酸溶液 { $Ca(OH)_2$  中和液} で滴定または水で稀釈して、その両液の電位差を測定した。結果を Fig. 2 に示す。

Fig. 2 の縦軸には  $K^+$  活量の代りに起電力をとり、横軸には 15.25 mM 濃度の KCl 溶液をアスパラギン酸溶液で滴定または水で稀釈して行なった時の ml 数を表わしている。図示の如く、両者の溶液につき  $K^+$  に可逆な電

位を比較した所、滴定または稀釈が KCl の 10 ml に対して、添加液量を 100 ml 加えた時の両液間の電位差に 12.5 mV の差が認められた。したがって、K-aspartate 溶液中の  $K^+$  活量が KCl 溶液中の  $K^+$  活量に比べて有意に小さいことがわかる。尚、 $Ca(OH)_2$  によるアスパラギン酸の中和の場合だけでなく、 $Ba(OH)_2$  などのアルカリ液で中和した場合も、 $Ca(OH)_2$  の影響と同じであることを確認した。したがって、酸度の影響は確かに存在するが Fig. 2 にみられたような両者間の大きな差をすべて説明しつくせるものではない。このことをさらに詳しく検討する

ために ① 15 mM KCl に 15 mM のアスパラギン酸を加えて滴定して行なった時と、② 15 mM のアスパラギン酸溶液に  $CaCl_2$  を加えて  $Ca(OH)_2$  飽和液で中和した時と同一の  $Ca^{++}$  濃度になるようにしたものを用いて、15 mM KCl を滴定したものと比較した (Fig. 3).

Fig. 3 の成績から明らかな如く、①の場合 (図の曲線①) も②の場合も互にほぼ重なってくる。このことは  $Ca^{++}$  の存在するとしなないと、 $K^+$  活量に著明な影響がないことを物語っている。したがって Fig. 2 の成績は、K-aspartate は KCl と異った形で K を結合しているものと推論せられる。

以上のように K-aspartate 溶液中での K の結合様相が KCl 溶液と異なり、KCl 溶液に比べて K-aspartate の  $K^+$  活量が有意に小さいことから、その溶液中で K とアスパラギン酸の間に特殊な結合、つまりキレート生成が考えられる。そこで、アスパラギン酸と  $K^+$  との間にキレート生成が起こるとの想定で、その場合のキレート安定度常数を次のような方法で算出した。すなわち、アスパラギン酸イオン  $[A^{-2}]$  と Kイオン  $[K^+]$  の反応によって、キレート化合物として、アスパラギン酸塩  $[AK^-]$  なる物質を生じ、ここに一つの化学平衡

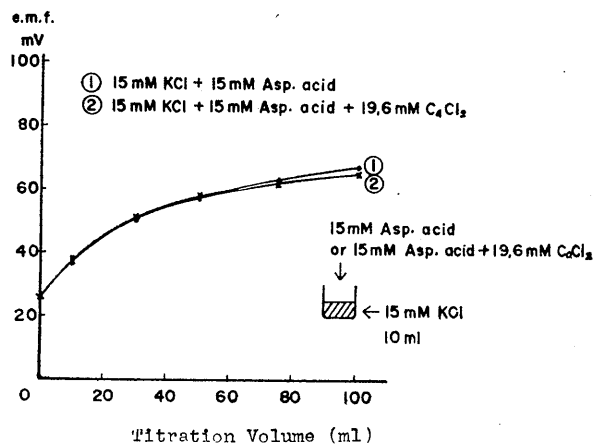
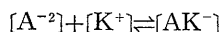


Fig. 3. Potentiometric titrations of aspartic acid and aspartic acid +  $CaCl_2$  in the presence of KCl with K-sensitive electrode at 23°C.

が成立すると考える。この場合のキレート安定度常数  $K_{AK}$  は

$$K_{AK} = \frac{[AK^-]}{[A^{-2}][K^+]}$$

として算出される。また、式中の  $[AK^-] = [K] - (K^+)$  として、 $[A^{-2}] = [A] - [AK^-]$  として求めることができる。ただし、 $[K]$  は被検液中の総 K 量を表わし、 $[K^+]$  は  $K^+$  活量から求められた  $K^+$  濃度 ( $K^+$ ) を示す。一方の  $[A]$  は総アスパラギン酸濃度を表わしている。もしも、K-aspartate が単なるイオン結合をした塩であるならば、これは水にとけると完全に  $K^+$  とアスパラギン酸陰イオンに解離してしまう筈であり、その  $K^+$  活量は、アスパラギン酸塩溶液と同じモル濃度の KCl の  $K^+$  活量とほぼ同じである筈である。しかるに、この両者に差が認められたことから、アスパラギン酸と  $K^+$  がイオン結合と異ったキレート結合を行なっていると思うべきである。そこで、まずこの K-aspartate 溶液につき K 硝子電極で求めた  $K^+$  活量を前記の Robinson 式を用いて算出しておいた活量係数で割って  $K^+$  の化学濃度を出しておく。一方、被検液中の総 K 量を炎光度計により求める。そして、これと前述の  $K^+$  活量係数を用いて算出した  $K^+$  濃度との差がキレートとして結合した K であると考えられる。また、この溶液の総アスパラギン酸



量からキレートとして結合したアスパラギン酸量を差引いた残りが遊離のアスパラギン酸イオンと考え、上式を用いて、これらの実測値より、キレート安定度常数 ( $K_{AK}$ ) が求められる。このようにして求めた安定度常数を Table 2 に示した。

Table 2 には、前述の KCl 溶液をアスパラギン酸溶液で滴定した時の種々の K 濃度におけるキレート安定度常数  $K_{AK}$  の対数值 ( $\log K$ ) を示したものである。表に示すとおり、キレート安定度常数は、標本ナンバー 1 から 9 までのいろいろの K 濃度において、よく一定値を保ち、その常数の平均値は 2.660 である。すなわち、ここにアスパラギン酸は、K とキレートもしくは、それに近い特殊な結合状態にあること

が定量的にも立証されたわけである。

所で、アミノ酸と金属イオンのキレートの問題については種々検討されてはいるものの、研究者で、必ずしも意見は一致せず、しかも強力なキレート化剤でないアスパラギン酸においては尚更のことである。したがって、アスパラギン酸と K イオンの結合の問題も単なる一つの方法のみの証明によって結合状態を云々する訳にはいかない。そこで、K 電極を使って調べた方法と全く同様な手技で、 $Na^+$  とアスパラギン酸の結合を Na 硝子電極 (Na 硝子電極については、すでに、吉村ら<sup>6)</sup> が詳細な検討を行なっている) を使って調べ、アスパラギン酸の  $K^+$  との結合を Na との結合と互に比較することにした。すなわち、NaCl 溶液をアスパラギン酸溶液 (Ca(OH)<sub>2</sub> で中和) で滴定した場合と、他方、これを蒸留水で稀釈 (アスパラギン酸単独による pH の影響を除くため) して行った時の電位変化から両者の関係のみたのである (Fig. 4)。

Table 2.  $K^+$  activity in aspartic acid solution at 25°C and chelate stability constant of K-aspartate

Sample No.	pH	$pK^+$		Chelate stability constant $\log K$	Aspartic acid concentration $\times 10^{-2}$
		KCl Sol'n	KCl + aspartic acid		
1	7.05	3.347	3.456	2.668	1.3069
2	7.05	3.356	3.495	2.667	1.3221
3	7.10	3.372	3.538	2.677	1.3344
4	7.10	3.377	3.553	2.658	1.3451
5	7.10	3.386	3.585	2.658	1.3557
6	7.10	3.398	3.620	2.664	1.3649
7	7.10	3.409	3.638	2.656	1.3725
8	7.10	3.414	3.658	2.647	1.3801
9	7.15	3.420	3.678	2.644	1.3862
Mean	7.10	3.387	3.580	2.660	1.3520

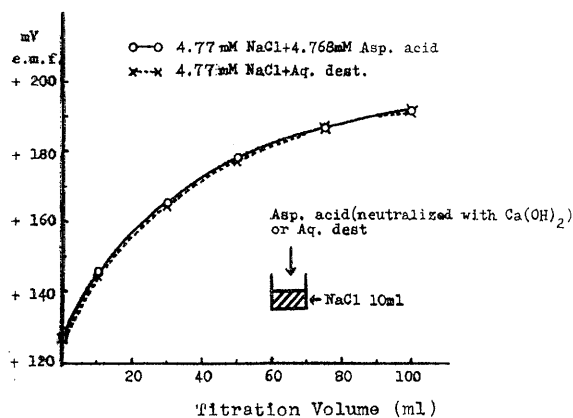


Fig. 4. Potentiometric titration of aspartic acid in the presence of NaCl with Na-sensitive electrode.

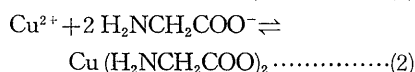
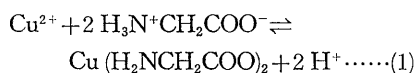
Fig. 4 の縦軸には、Na 硝子電極で測定した起電力を mV で表わし、横軸には、4.77 mM の NaCl 溶液 10 ml をとり、これを 4.77 mM のアスパラギン酸溶液 (Ca(OH)<sub>2</sub> で中和) で滴定した場合 (実線) と蒸留水で稀釈して行なった時 (点線) の滴定または稀釈 ml 数を示している。両溶液の Na 濃度を等しくおいた場合の  $Na^+$  活量には、上図から明らかなように殆んど差を認めなかった。

したがって、アスパラギン酸のアルカリ金属イオンに対する結合の形は、その金属イオンの種類によっても異なるものと想像され、 $Na^+$  とは全くのイオン結合である。すなわちアスパラギン酸は、 $Na^+$  よりも  $K^+$  に対

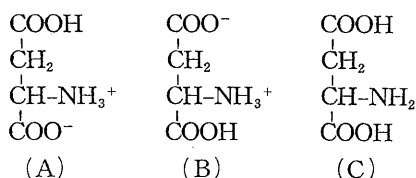
したがって、アスパラギン酸のアルカリ金属イオンに対する結合の形は、その金属イオンの種類によっても異なるものと想像され、 $Na^+$  とは全くのイオン結合である。すなわちアスパラギン酸は、 $Na^+$  よりも  $K^+$  に対

する結合親和性が特異的に強いのであろうと考えられる。

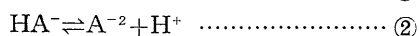
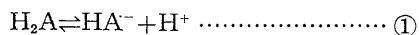
以上のようなイオン活量の面よりの吟味の外に全く別の方法を用いて K-aspartate の結合状態を検討することにした。この方法については例えば、すでに証明されている銅イオンとグリシンのキレート生成反応の場合、下に示すような反応により配位子から水素イオンが放出されて溶液の pH が小さくなる。



また、(2) 式にしたがってキレートの生成が進み  $\text{H}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$  が減り、アミノ酸のイオン化が進んで pH が小さくなるとみなすこともでき、いずれにしても、その pH の低下度を知ることが実験の第一歩となっている。したがって、配位子の同濃度の溶液に同量ずつの金属イオンを加えたときに大きい pH の低下をもたらし金属ほど安定なキレート化合物を作ることが定性的にもわかる。このような pH 測定による安定度常数の決定法は、Bjerrum (1941) の原理<sup>7)</sup> に基づいて求めたものである。実際には、アスパラギン酸は、溶液中で下式に示すような3つの形 ((A), (B), (C)) をとる。



また、そのみかけの解離常数は次の通りである。  $\text{pK}_1' = 1.88$  (COOH),  $\text{pK}_2' = 3.65$  (COOH),  $\text{pK}_3' = 9.60$  ( $\text{NH}_3^+$ )。しかしながらアスパラギン酸の滴定曲線をかかせると、その曲線に現われる解離は2段としか判別しえないので、ここでは2段の解離とみなして、次のような反応式、すなわち



を想定した。したがって、この場合のみかけの

Table 3. Chelate stability constants and reciprocal of ionic radius, at 25°C. (Ionic strength 0.15)

Metal ion	Chelate stability constants $\log K_M$	Reciprocal of ionic radius
$\text{K}^+$	1.91	0.75
$\text{Na}^+$	0.76	1.05
$\text{Ba}^{2+}$	2.05	0.74
$\text{Ca}^{2+}$	2.16	1.01
$\text{Mg}^{2+}$	2.60	1.54

解離常数は①の反応の場合

$$K_1 = \frac{[\text{H}^+][\text{HA}^-]}{[\text{H}_2\text{A}]}$$

として②の場合

$$K_2 = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^{2-}]}{[\text{HA}^-]}$$

が算出される。そこでアスパラギン酸溶液 ( $\text{H}_2\text{A}$ ) がアルカリまたはアルカリ土類金属 ( $\text{M}^{+2}$ ) との共存下で、上図に示す如く、 $\text{M}^{+2} + \text{H}_2\text{A} \rightleftharpoons \text{MA} + 2 \text{H}^+$  ( $[\text{M}^{+2}] + [\text{A}^{2-}] \rightleftharpoons [\text{MA}]$ ) なる反応が進行して、アスパラギン酸と金属イオンによるキレート化合物 (MA) を生成し、 $\text{H}^+$  を解離しているものとして、キレート安定度常数  $K_M$ , すなわち

$$K_M = \frac{[\text{MA}]}{[\text{M}^{+2}][\text{A}^{2-}]}$$

を求めた。尚、計算式中の  $K_1, K_2$  はそれぞれ前記の  $\text{pK}' = 3.65$  および  $\text{pK}_3' = 9.60$  を用いた。水素イオン濃度は Kielland の水素イオン活動度係数 0.83 より算出した。その結果を Table 3 に示した。

Table 3 の左の欄には、用いたアルカリ金属またはアルカリ土類金属イオンを、中央の欄には、キレート安定度常数  $\log K_M$  をとり、右欄には各種金属イオン半径の逆数を示した。

上表から明らかな如く、検出金属イオン中、 $\text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Ba}^{2+}, \text{Ca}^{2+}$ , および  $\text{Mg}^{2+}$  の順に安定性が増している。その中、アルカリ土類金属イオンにおいては、Lumb et al.<sup>8)</sup> (1954) および Martell et al.<sup>9)</sup> (1960) が、アスパラギン酸と種々のアルカリ土類金属とのキレート安定度常数を求めた結果と傾向は、ほぼ一致してい

る。また、その常数はアルカリ土類金属のイオン半径の逆数と相関があり、そのイオン半径が大きくなるにしたがって、キレート安定度常数が小さくなること（逆比例関係）が明らかにせられた。Table 3 では、金属イオンの半径の逆数が示されてあるので、表の上では、両者は正比例的になっている。なお、Lumb, Martell<sup>8)</sup>らは、アルカリ土類金属イオンとアスパラギン酸とのキレート安定度常数を求めているばかりでなく、グルタミン酸との常数をも算出している。その成績によれば、 $\text{Ca}^{++}$  や  $\text{Mg}^{++}$  とグルタミン酸とからえられるそれぞれの常数を比較した場合、アスパラギン酸における常数は、グルタミン酸よりえられる何れの常数よりも大きい値が算出されている。したがって、アスパラギン酸とアルカリ土類または、アルカリ金属イオンとのキレートの問題は、非常に興味深いことである。唯、Lumb et al. は  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  の如き1価のアルカリ金属イオンとの関係については述べていないが、明らかに2価のアルカリ土類金属イオンとは結合態度が異なっているようである。

そこで、このような pH 測定法によって求めた。アスパラギン酸の  $\text{K}^+$  に対するキレート安定度常数  $\log K_M$  は、K 硝子電極で求めた  $\log K$  の如く、種々なるアスパラギン酸塩濃度において、一定値はえられにくかった (Table 4) が、ここではそれらの平均値を求めて論ずることとした。

Table 4 には、pH 測定法から求めた K-

aspartate のキレート安定度常数の1例を示した。表の右欄に示す如く、滴定液中の3つの pH 点における安定度常数を上式により算出したが、その値は、それぞれ異っている。所で、その平均値 (1.91) はK電極で求めた値 (2.66) とは異っており、何れの値が正しいか、今直ぐには決定できないが、多数の測定値がよく一致するところから考えて、K電極で求めた値の方が正しいと考えられる。結局、Martell らの方法 (pH 測定による方法) をそのまま1価イオンに適用することにも無理があるかもしれない。要するに、K電極を使用した著者の成績から考察すれば、アスパラギン酸は  $\text{Na}^+$  よりも  $\text{K}^+$  に結合親和性を有して、 $\text{K}^+$  との間に特殊なキレート結合を行なっていることが明らかである。

次に、ペーパークロマトグラフィーで K-aspartate と  $\text{KCl} + \text{Asp.}$  の両溶液を展開してみた。尚、展開条件ならびに展開溶媒は前述のとおりである。

Fig. 5 には、K-aspartate および  $\text{KCl} + \text{Asp.}$  のペーパークロマトグラフィーの展開結果を示した。図の上段にみられる如く、K-aspartate の場合には、K (黒く塗りつぶしたスポット) とアスパラギン酸 (図中白丸) のスポットが重なって出現し、 $\text{KCl} + \text{Asp.}$  の場合は両者のスポットが完全に分離 (図の下段) して現われた。このように、ペーパークロマトグラフィーの結果からもわかるように、 $\text{K}^+$  とアスパラギン酸の結合が、K-aspartate と  $\text{KCl} + \text{Asp.}$  とで異なる。

Table 4. Chelate stability constant of K-aspartate at 25°C

Sample No.	$C_A$	$C_K$	pH	$[H]$	$C_H$	$K_M = \frac{KA}{(K^+)(A^{2-})}$	$\log K_M$
1	0.02668	0.00267	9.05	$1.0734 \times 10^{-9}$	0.05336	$5.82 \times 10$	1.7649
2	0.02500	0.00250	9.45	$4.2772 \times 10^{-10}$	0.05000	$7.79 \times 10$	1.8915
3	0.02352	0.00235	9.80	$1.9036 \times 10^{-10}$	0.04704	$1.19 \times 10^2$	2.0755
Average							1.9106

$C_A$  : Total molar concentration of aspartic acid

$C_K$  : Total molar concentration of potassium

$C_H$  : Total molar concentration of dissociable hydrogen ion of aspartic acid

ることが本実験から明らかとなった。

序文でものべたように、副腎皮質ミネラルコルチコイドが作用して腎尿細管でのNa吸収とK分泌の調節を行なう場合、細胞外に存在するアミノ酸ないしは代謝基質が腎細胞内にとりこまれて、そこで利用されることが考えられる。細胞外において、あるいは時に細胞内において存在するアスパラギン酸塩の結合状態が異なる時、おそらく、腎細胞のとりこみ、あるいは利用のされ方が互に異なることは充分予想されることである。腎においてはグルタミンの代謝は極めて活発であり、アスパラギン酸もイヌの静脈内に注入した場合にグルタミンの場合と同様に細胞内に利用されて尿中アンモニア産生を増すことは、多くの学者<sup>10)11)12)</sup>によって知られた所であり、腎尿細管細胞の生理機能の維持のためには、これらのアミノ酸の細胞内の輸送および利用の程度が極めて重要であろうと考えられる。

アスパラギン酸を単独で、あるいはK塩として静脈内にあたえた時に尿細管細胞内電位を増す効果<sup>13)</sup>については、アスパラギン酸塩は通常再吸収がすぐれ、尿中に排泄されにくいことが立証されている。しかも、これを投与した後、2時間以上も電位をます効果が持続していることも知られている。アスパラギン酸のT<sub>m</sub>は正確には測定されていないが、近縁のα-ケトグルタル酸では、イヌで血漿濃度2mM/l程度<sup>14)</sup>とされており、これと容易にアミノ転移をおこすアスパラギン酸も、その程度に再吸収されるものと予想される。前報<sup>1)2)</sup>にのべたように著者の観察における2時間以上の電位に対する時間経過では、血漿中のアスパラギン酸濃度は当然それ以下に下っておることから、アスパラギン酸は、細胞内代謝に利用され、それが電位増強の効果を発揮したものと考えられる。しかも、この効果が、アスパラギン酸とKClの混合物よりもアスパラギン酸K塩の形で与えたものの方が大きく現われるのであるから、結局、アスパラギン酸のアルカリ塩の結合状態の違いが細胞へのKの輸送に差をもたらし、これ

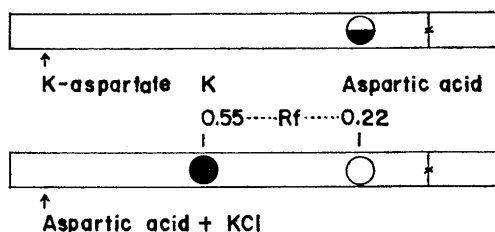


Fig. 5. Comparison of paper-chromatographical pattern of K-aspartate, and mixture of KCl and L-aspartic acid.

によって尿細管の電解質ならびに電位の変化を招来したものと思われる。

### 総 括

細胞内電位測定による腎尿細管機能に関し、K-aspartateの影響がKCl+Asp.と異なる理由を明らかにする為に、アスパラギン酸と塩を形成しうるアルカリ金属またはアルカリ土類金属イオン、それらの中で、特にK<sup>+</sup>との結合状態について、in vitroで検討した。すなわち、実験としては、K硝子電極を使用して、K-aspartate溶液と比較対照としてのKCl溶液とについて、両者のK<sup>+</sup>濃度を等しくおいた場合のK<sup>+</sup>活量を測定した。その結果、KCl溶液のK<sup>+</sup>活量に比較して、K-aspartate溶液のK<sup>+</sup>活量は有意に小さいことがわかった。

さらに、K硝子電極で求めた、K-aspartate溶液のK<sup>+</sup>活量からキレート安定度常数を求め、平均して2.66の値がえられた。一方、LumbやMartellらの方法にしたがって、アルカリ土類塩とアスパラギン酸の混合物の滴定により、キレート安定度常数を計算したが、これはMartellらの値にほぼ一致したが、K<sup>+</sup>との常数は、上記の値(2.66)よりは小さい値(1.91)がえられた。また、ペーパークロマトグラフィー法により、K-aspartateはK<sup>+</sup>とアスパラギン酸とに分離するものではなく、両者は常に相伴って動くことを証明した。

以上の成績から、以前著者の観察したK-aspartateとKCl+Asp.の尿細管細胞の電位ならびに電解質濃度に対する効果の相異は、この

両者間の物理化学的な性状の差にもとづき、細胞内への輸送および利用の程度が異なるために生じたものと考えられる。

稿を終るに当たり、本研究費の一部は、文部省試験研究費（吉村寿人あて）の援助によってなされたことを附記し感謝の意を表わしたい。また、第1生理学教室吉村寿人教授の御懇切な御指導、御校閲に心から感謝します。なお、本研究の実験に御指導戴いた岐阜大学医学部第2生理学教室藤本 守助教授ならびに本教室の森本武利博士に深甚の謝意を表します。

#### 文 献

- 1) 檜垣 鴻 (1968) 細胞内電位測定による腎尿細管機能、とくにアスパラギン酸塩の影響 第1報 尿細管電位に対する代謝酵素の基質の影響（とくに副腎皮質ホルモン作用との関連性）について 日腎誌 **10**(6), 569-585
- 2) 檜垣 鴻 (1969) 細胞内電位測定による腎尿細管機能、特にアスパラギン酸塩の影響 第2報 L-アスパラギン酸K塩の尿細管細胞内電位におよぼす影響について 日腎誌 **11**(2), 343-351
- 3) Laborit, H. (1966) On mechanism of action of potassium and magnesium salts of aspartic acid. *Agressology* **7**(5), 515
- 4) Nieper, H. A. (1966) Electrolyte transport therapy of cardiovascular diseases. Experimental and clinical basis. *Electrolytes and Cardiovascular Diseases* **2**, 141
- 5) Robinson, R. A. and Stokes, R. H. (1959) *Electrolyte Solutions* Butterworths Scientific Publications London
- 6) 吉村寿人・平川千里・森本武利 (1962) Na 硝子電極とその生体液への応用 生化学 **34**, 154-158
- 7) Bjerrum, J. (1941) Metal formation in aqueous solutions Copenhagen
- 8) Lumb, R. F. and Martell, A. E. (1953) Metal chelating tendencies of glutamic and aspartic acid. *J. A. C. S.* **57**, 690-693
- 9) A. E. マーテル・M. カルピン (小林道夫・藤本昌利・水町邦彦訳) (1960) 金属キレート化合物 共立出版 東京
- 10) Bliss, S. (1941) Increased excretion of urinary ammonia in the dog following the intravenous injection of both natural and unnatural forms of certain amino acids. *J. Biol. Chem.* **137**, 217
- 11) Lotspeich, W. D. and Pitts, R. F. (1947) The role of amino acids in the renal tubular secretion of ammonia. *J. Biol. Chem.* **168**, 611
- 12) Kamin, H. and Handler, P. (1951) Effect of infusion of amino acids upon excretion of other amino acids. *J. Biol. Chem.* **164**, 654
- 13) 吉村寿人・藤本 守 (1964) 生理面からみた尿細管機能 (3) 酸性尿とアンモニア 最新医学 **19**, 3115-3136
- 14) Balagura, S. and Pitts, R. F. (1964) Renal handling of  $\alpha$ -ketoglutarate by the dog. *Am. J. Physiol.* **207**, 483-494

## The duration of the active state in the guinea-pig taenia coli

Hidenobu Mashima and Michitsugu Handa \*

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

According to Hill<sup>1)</sup> (1949), the change in the mechanical active state of a skeletal muscle attained the crest very soon after the stimulus, continued for a time and then decayed slowly. Recently, Mashima<sup>2)</sup> (1967) has investigated on the duration of the active state generated by a train of pulses in the frog semitendinosus muscle and has stated that the half duration of the active state generated by a single pulse is prolonged by the second pulse far more than the pulse interval. This fact suggests that the active state generated by single pulse does not attain the crest. The present study was undertaken to examine the mode of prolongation in the duration of the active state of the smooth muscle.

The material used was a strip of the taenia coli of the guinea-pig, about 20 mm in length. The muscle was mounted vertically in the cylindrical bath filled with 50 ml of Krebs' solution, which was aerated with 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub> gas mixture, the pH was 7.1 and the temperature was maintained at 36°C. One end of the muscle was connected to the isometric lever and the other end was to the small lever for quick release. In this muscle it was difficult to produce a twitch response by a single pulse. Therefore, a longitudinal alternating current (AC) field stimulation was applied. Referring to the previous study (Mashima and Handa<sup>3)</sup>, 1969), the stimulus condition was fixed at 50 c/sec in frequency, 5 V/cm in intensity and the duration of stimulus was changed. In order to obtain the falling phase of the active state, the isometric quick release method described by Ritchie<sup>4)</sup> (1954) was adopted. One end of the muscle was released at various moments after the beginning of stimulus by 10% of the initial length. This release length was the minimum length required for the developed

tension to fall to the resting level. Then, the peaks of redeveloped tension curves were plotted. The quick release was made by pulling a small hook attached to the small lever by means of an electromagnet. Before each stimulus, 10<sup>-7</sup> g/ml adrenaline was added into the bath in order to relax the spontaneous contraction.

The falling phases of the active state thus obtained were shown in Fig. 1. The duration of the active state at the half intensity ( $D_{1/2}$ ) measured from the beginning of stimulus was 2.3 sec when the stimulating time was 0.5 sec. It was prolonged to 3.5 sec for 1 sec stimulus. The prolongation of  $D_{1/2}$  is 1.2 sec, that is longer than the prolongation of stimulus. When the stimulating time was in the range between 1-4 sec, the prolongation of  $D_{1/2}$  was equal to that of stimulus and for 4 sec stimulus the maximum tension was attained after 6 sec from the beginning of stimulus. Then it is concluded that the stimulus longer than 1 sec is necessary to attain the full active state, and that the full active state is attained after 3 sec from the beginning of stimulus and is maintained for 2 sec after the end of stimulus. The rising time of the active state was about 3 sec and the decay time from the full active state to its half intensity was about 1.4 sec. These facts indicate the slow onset of the active state and similar time constants in the rising and falling phases in the smooth muscle.

For the further prolongation of stimulus, the prolongation of  $D_{1/2}$  became rather shorter than that of the stimulus. When the stimulus was longer than 7 sec, the active state curve fell rapidly by about 20% during stimulus and thereafter this state was maintained as long as the stimulus was continued (Fig. 1, curve 10). In the atropinized (10<sup>-7</sup> g/ml) muscle, the maximum tension was decreased to a half but the rapid decrease of the active state during stimulus did not occur. It was demonstrated in the previous paper (Mashima and Handa<sup>3)</sup>,

\* 真島英信・半田道胤：順天堂大学医学部  
生理学第二講座

[Received for publication July 25, 1969]

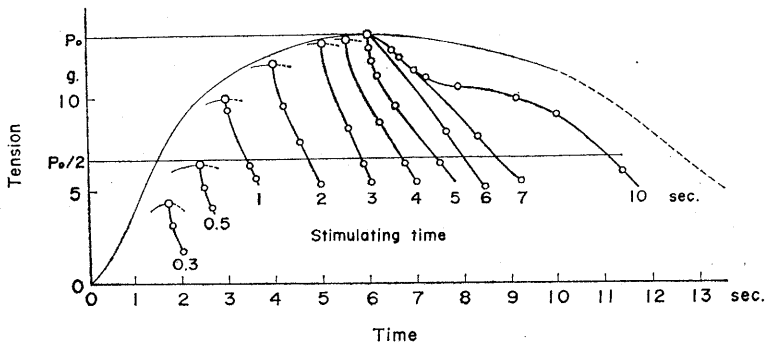


Fig. 1. The active state curves generated by AC (50 c/sec, 5 V/cm) stimulus with various stimulating times in the guinea-pig taenia coli.  $P_0$ , the maximum tension or the full active state; figures in the diagram show the stimulating times.

1969) that the tension developed by 50 c/sec AC was the sum of the nervous effect and the direct effect to the muscle. As the fatigue in the contractile machine is not manifested in 7 sec, the rapid decrease of the active state may be due to an indirect effect through cholinergic nerves. Probably the summation of slow inhibitory hyperpolarization following to the spike potential (Hidaka and Kuriyama<sup>5</sup>, 1969) may result in the suppression for the contractile system.

When the stimulating time was fixed at 5 sec and the concentration of external  $Ca^{++}$  was reduced from 2.5 mM to 0.5 mM, both the duration and intensity of the active state were decreased. Contrary, when it was raised from 2.5 mM to 15 mM, only the duration of the active state was slightly prolonged.

It is concluded: 1) The full active state of the guinea-pig taenia coli was attained after

3 sec from the beginning of 50 c/sec AC stimulus and it was maintained for 2 sec after the end of stimulus and decayed with the half decay time of 1.4 sec. 2) For longer stimulus than 7 sec the full active state was suppressed rapidly by 20% during stimulus, probably because the inhibitory potential of the muscle membrane. 3) Reducing the external  $Ca^{++}$ , the duration and intensity of the active state were decreased.

#### References

- 1) Hill, A. V. (1949) Proc. Roy. Soc. **B 136**, 399-420
- 2) Mashima, H. (1967) J. Physiol. Soc. Japan **29**, 708-709
- 3) Mashima, H. and Handa, M. (1969) J. Physiol. Soc. Japan **31**, 326-327
- 4) Ritchie, J. M. (1954) J. Physiol. **126**, 155-168
- 5) Hidaka, T. and Kuriyama, H. (1969) J. gen. Physiol. **53**, 471-486

## Spontaneous grouped discharge of secretory neuron soma in X-organ of crayfish, *Procambarus clarki*

Shizuko Iwasaki and Youko Satow \*

*Department of Physiology, University of Tokyo and Department of  
Physiology, Tokyo Medical College*

It has been known that the ganglionic X-organ in medulla terminalis of the crustacean eyestalk is composed entirely of the cell bodies of neurosecretory cells and that cell bodies send their axons to the sinus gland where neurosecretory materials are stored and released to body fluid as hormone<sup>1)</sup>. Membrane characteristics of the soma at rest and action of crayfish X-organ were reported elsewhere<sup>3)4)</sup>.

In the present paper, spontaneous and grouped discharge in the secretory neuron soma is reported with special respect to the automaticity of the membrane and to the secretory activities of this X-organ-sinus gland complex.

When the microelectrode filled with 3 M KCl was inserted into the naked neuron soma which was subjected to the continuous stream of Harreveld solution, spontaneous discharges appeared intermittently in certain preparations as shown in Fig. 1 A. Individual group of discharge is composed of several to several tens of successive spikes (B). The intervals of the grouped discharge were ranged 5 to 40 sec depending on the preparation. It cannot be the injury discharge since the same grouped discharge was observed extracellularly in the X-organ-sinus gland tract before insertion of the electrode. With the change in the membrane potential by direct current passed through the recording electrode, the interval of grouped discharge increased when the membrane was hyperpolarized and decreased when depolarized. An example of the interval-membrane potential relationship is shown in C. As seen in A, shift in the membrane potential reset the development of the grouped discharge while the duration and the number of spikes in one group remained constant. The quite similar pattern

of discharge to the spontaneous one was elicited by the application of short depolarizing current passed through the membrane.

In some preparations, a plateau following one to several spikes appeared at regular intervals which also change with the membrane potential shift. The potentials of this type resembled to the mammalian cardiac action potentials in their configuration. With the brief hyperpolarizing current, the later phase of the plateau was easily abolished. Furthermore, it was found that the conductance measured by the repetitive hyperpolarizing pulses decreased progressively during the plateau. Immediately after the plateau or the grouped discharge, the conductance became much larger than that in the plateau, and then decreased gradually leading to the next spontaneous discharge.

Any local potential, like synaptic potential, corresponding to the grouped discharge was not observed when the soma membrane was hyperpolarized, while the synaptic noise increased in amplitude with the hyperpolarization. There is evidence that picrotoxin blocking the inhibitory synaptic potential<sup>3)</sup> in this neuron does not affect the pattern of the spontaneous discharge as well as the configuration of the spikes, suggesting inhibitory synaptic potential does not interfere the initiation of grouped discharge.

From the evidence presented above, 1) dependency of the intervals on the membrane potential, 2) reset by the shift of the membrane potential, 3) abolition during the plateau, 4) cyclic change in conductance, 5) no synaptic potentials corresponding to the grouped discharge and 6) ineffectiveness of picrotoxin, it is inferred that the grouped discharge arises from the automatic membrane characteristics of the secretory neuron soma. The membrane has such a nature that the automatic and periodic permeability change which is affected

\* 岩崎静子・佐藤侑子：東京大学医学部生理学  
教室および東京医科大学生理学教室

[Received for publication August 25, 1969]



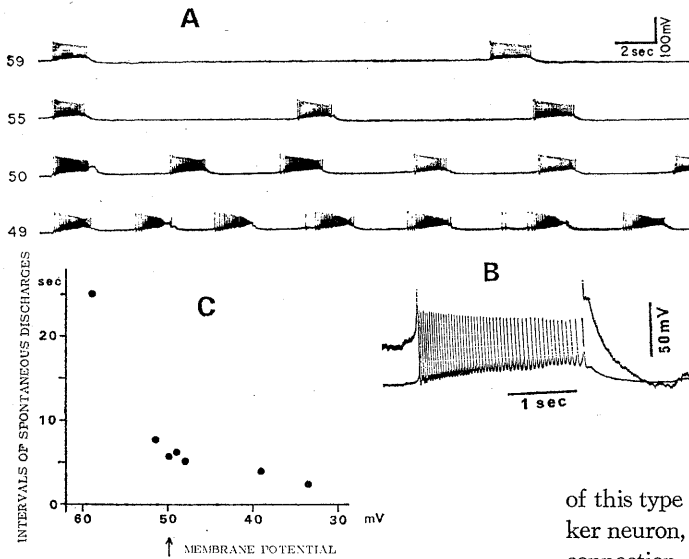


Fig. 1. Spontaneous grouped discharge and its dependency on the membrane potential. The membrane potential was changed to a new level 0.6 sec after the beginning of the each record where the first grouped discharge took place. Figures left side of each record indicate the membrane potentials. Resting potential: 50 mV. One example of the discharge was shown in B. Upper record was taken with five times larger amplification. Voltage calibration is for the lower record. C; Mean intervals of the grouped discharge were plotted against the membrane potentials.

by its membrane potential takes place spontaneously, in other words. Calcium ion of the medium would be one of the agents which affect the automatic activity of this neuron.

There were some cells in which the intervals of the grouped discharge did not change with the membrane potential. After the change of the membrane potential only the first grouped discharge appeared at an increased or a decreased interval depending on the direction of polarizing current applied. But the next interval restored to the original value regardless the membrane potential level. With the hyperpolarization in these cells, a small and slow membrane potential changes, instead of the grouped discharge, appeared with the same frequency. They did not increase the amplitude as the hyperpolarization was increased further. Because there was no anomalous rectification in this neuron in the hyperpolarizing direction<sup>3</sup> and because stronger hyperpolarizing short pulse abolished these small potentials, they cannot be the synaptic potentials. They must be electrotonic potentials spread from the automatic pacemaker neuron. This implies that the two types of neuron have an electrical coupling in between. Further study of the action potential of the X-organ-sinus gland tract suggests that the neuron

of this type which follows the automatic pacemaker neuron, *follower neuron*, would have a close connection electrically with the pacemaker neuron<sup>4</sup>.

Similar kind of spontaneous grouped discharge was reported Kandel and Spencer in the hippocampal neuron of cats<sup>5</sup> and by Frazier et al. in the abdominal ganglion cells of *aplysia*<sup>2</sup>. A The membrane automaticity resemble to that of X-organ have been found in the cardiac ganglion cells of stomatopod<sup>6</sup>. In the X-organ neuron soma, the occurrence of the grouped discharge depends on the animal and their appearance seems to depend on season. The automaticity of this neuron by which the spontaneous grouped discharge develops must be a certain manifestation of the secretory phenomenon in this X-organ-sinus gland complex.

#### References

- 1) Bern, H. and Hagadorn, I. R. (1965) in "Structure and Function in the Nervous System of Invertebrate" by Bullock and Horridge, Freeman Co.
- 2) Frazier, W. et al. (1967) *J. Neurophysiol.* **30**, 1289-1351
- 3) Iwasaki, S. (1968) *Proc. of the Int. Union of Physiol. Sci.* 213
- 4) Iwasaki, S. and Satow, Y. (in preparation)
- 5) Kandel, E. R. and Spencer, W. A. (1961) *J. Neurophysiol.* **24**, 243-259
- 6) Watanabe, A., Obara, S. and Akiyama, T. (1967) *J. Gen. Physiol.* **50**, 839-862

## [学会抄録]

## 第182回生理学東京談話会

日 時 昭和44年5月24日(土) 午後1時20分～5時30分

所と当番 東京医科大学同窓会館4階講堂 若林 勲・大畑 進

1. 高張食塩水負荷イヌにおける二、三の知見  
長坂昌人(東大吉利内科)

前報と同じくイヌに10%食塩水 100 ml を1時間かけて持続静注した際の、腎からの Na の排泄の機構について2組の実験を行なった。

1. 放射性 Na による compartmental analysis. 静注終了直後に  $^{24}\text{NaCl}$  を静注し kinetics を観察した。われわれのモデルは元来線型でなかったし、また事実負荷後4時間の経過は定常状態とはいい難いので、この方法を用いるのはかなり無理がある。しかし tracer 静注直後はそのまま使えるし、血中消失曲線の末尾部分もゼロ時間に外挿すればある程度情報をえられるのではないかと考えた。その結果は高張食塩水負荷直後にはいわゆる機能的細胞外液量に相当する部分の Na が拡張し、外挿によってえられた総可換 Na の差である遅い compartment の Na はあまり変化しなかった。この成績は高張食塩水負荷後の Na 調節は単容量模型で近似できること、および前報の2容量模型のシミュレーションで細胞内には Na があまり入らないという計算と良く一致する。

2. 大動脈カテーテルによる狭窄実験。腎動脈の直上でバルーンを30分ふくらませ、前後の対照期間と比較した。われわれの閾値説によれば高張食塩水負荷後の Na 排泄は GFR が減少した場合それに比例して減少しゼロに向う筈である。また fractional reabsorption 一定説ならば GFR の減少より Na 排泄の減少の方が速やかであると予想される。実験結果は閾値説の方に有利に思われた。また GFR が50%以下しか減少しなかった場合は Na 排泄の減少は認め難く、GFR が50%以上低下した場合 Na 排泄は急激に減少した。GFR の減少が大きくない時はいわゆる glomerulo-tubular balance は一部代償されてしまうという説で解釈することも可能であろう。

2. 肘静脈圧からする体循環充満平均圧の推定  
平川千里・伊藤裕康・近藤靖士・渡辺郁雄・佐藤重光・早瀬正二(岐阜大第2内科)

演者らは Guyton のいう静脈還流曲線 venous return curve の概念を、近似の為の大胆な仮定の許にヒトに応用して、右心不全の場合には体循環充満平均圧 mean systemic filling pressure (以下 Pms と略記) が肘静脈圧からほぼ推定できるらしいことを第36回近畿生理学談話会にて発表した。今回はベントバルビタール麻酔下の開胸イヌ(左胸廓のみ)において、右房に位置せしめたバルーンを膨らせることによって、急性に体静脈うっ血をおこさせ、その際の Pms を測定した。同時に前肢の太い皮下静脈の内圧と股静脈圧を応答時間10秒以内の“water-manometer”により測定した。このようにして Pms と末梢静脈圧の関係を調べた。

方法としては大動脈基始部に装着した電磁血流量計により心送血量を、右房内にてバルーンを膨らませた時の中心静脈 central venous pressure は上大静脈に先端を有する“右心カテーテル”によって測定した。予備実験として35分間に7回 Pms を測定し、その実測値が  $5.5 \pm 0.5$  mmHg の範囲で安定である事を知った。心送血量の記録値は15%以下の範囲で安定であった。

右房内バルーン法による急性静脈うっ血には著しい Pms 上昇が伴うことを知った。且つこの反応は予め自律神経節遮断剤たる pentolinium tartarate を動物に投与する事により、殆んど消失した。実測された Pms と末梢静脈圧の関係をみるに、末梢静脈圧が 100 mm H<sub>2</sub>O を越えて高くなる時に、両者が接近する傾向を認めた。この傾向は pentolinium 前処置の場合に特に著明であった。

成績の分析の結果、(1) 静脈還流抵抗の著増なくして、(2) 心送血量が減少すること、が両者の接近を起こす主たる原因であるらしい。

## 3. 網様体ニューロンの活動におよぼす脳温、皮膚温の効果

中山昭雄(名大第1生理)

脳幹網様体を局所的に加温冷却すると、冷却に

よって放電数の増加を、加温によって減少消失を示すニューロンがある。そのうちのあるものは試みた限りでは皮膚の機械的刺激や音・光等に応じて、また視束前野の温度によっても左右されず、局所の温度に直線的に逆比例して放電数が著明に変化した。これらは冷の受容器であろうと思われるが、無麻酔動物で網様体を局所冷却するとふるえはおこるけれども、視束前野の冷却ほど強くはない。

カイウサギ軀幹部の毛を剃って水槽に入れ、水の温度をかえると、温度の下降によって半数以上の網様体ニューロンは放電の増加を示した。水温 34°C 以下では特に著明で、軽く麻酔したカイウサギはしばしば粗大な体動をおこした。38°C 以上では放電の減少消失が見られる。このとき皮膚に機械的刺激を与えると、一過性の放電出現を見る。あるニューロンは局所脳温の低下、皮膚温下降のいずれによっても放電数の増加を示した。

水温を低く一定に保つ限り、高頻度放電が続きほとんど順応は見られない。網様体の大脳賦活作用に皮膚温は常時関与しているものと思われる。

#### 4. 自発発射トリガー法による神経伝導速度の測定

渡部士郎 (千葉大第1生理)

神経線維の伝導速度は、生体特に神経系の機能解析の重要要素である。従来は、刺激によって活動電位を発生させ、しかる後、伝導に要した時間と、伝導区間の両者から伝導速度が求められてきた。しかし生理学では誘発電位のみでなく、自発活動単位発射の意義を知る必要のある場合が多い。本測定方法はその目的に適するものと考えられる。

脊髄前根、後根あるいは末梢神経を単位放電になるまで分離しておき、これに数 mm の距離を隔てた 2 コの単極導出電極にあてる。それぞれの電極は、特性の等しい 2 つの増幅系 A, B に導かれ、その出力を 2 現象ブラウン管オシロスコープの A, B 両チャンネルの垂直入力に入れる。掃引モードを内部起動にすると、神経インパルスを始めに感ずる方の電極につながる増幅チャンネルに同期入力スイッチを切り替え、かつ、トリガリングレベルを適当に調節することにより、掃引は活動電位波形の立上りの相の適当な時点で開始さ

れるようになる。掃引速度は 100~50  $\mu\text{sec}/\text{cm}$  が適当である。2 ビームは同時に掃引を開始するが、A, B 両系を経て増幅された活動電位の頂点は、2 コの単極導出電極の電極間距離を伝導するに要した時間だけ遅れて観察されることになる。したがって、①この時間差と、②電極間距離の 2 者から、伝導速度の測定が可能となる。本法は、はじめ、前根ガンマ活動研究のために考えられたのであるが<sup>2)</sup> 自律神経に含まれる自発活動性の知覚線維の伝導速度測定には有力な手段であるので、教室の道場、斎藤らによって行なわれた carotid body baroreceptor からの知覚性自発活動線維の伝導速度測定結果をも併せて紹介した。

- 1) Ginzel, K. H., Watanabe, S., Eldred, E. and Grover, F. (1968) Depression of gamma efferent activity by nicotine. Fed. Proc. 27, 572
- 2) Grover, F., Eldred, E., Ginzel, K. H. and Watanabe, S. (1968) Effect on dynamic and static fusimotor activity of nicotine. Proceeding of the International Physiological Sciences, Washington, D. C. Vol. VII. p. 170

#### 5. 人体基礎生理学研究所設立案における問題点と業務専門委員会の考え

人体基礎生理学研究所設立準備委員会

1. プロジェクトリーダーの資格 (職階制との関係)

教授、助教授、助手は研究者として予算および研究所の運営に関して対等の資格をもつ。

プロジェクトリーダーについては研究の細分化を防ぐ意味で運営上考慮するから、すべての研究者がリーダーになるわけではない。

2. 新研究所設立に関して法改正の必要があるか?

(例えば国立共同研究所法案、研究事務員に対する新しい取扱い等)

現行法を準用して運用によって設立理念に近づけるようにする。法改正は学術会議の学術体制委員会为主体的に取り組まれているので準備活動の過程でそこに意見を反映させてゆく。

3. プロジェクト研究と研究者の研究の自由

当研究所は人体基礎生理学のプロジェクト研究所である。公募は運営委員会の決定するプロジェクトを基にして行なわれ、運営委員会により決定

される任期中の身分および研究の自由は保障される。

#### 4. 任期性の是非と運用の可能性

可能性を論ずるより実現を努力すべきであり、この実現のための協力を関連各学会によびかける。任期性をとる事の利点の大きさを考える。

#### 5. 共同利用が保障されるか

私立大学よりの応募者は期間が2年以内であればプロジェクト部門を利用することにより現職を継続することが可能である。国公立大学の場合も同じである。

### 6. Temporal masking について

渡辺 武(東京医歯大難聴研)・島田純一(東大音声研)

Masking に関する心理学的実験は Wegel and Lane の研究を始めとして広く行なわれているが、その生理学的機構については余り知られていない。単一聴ニューロン活動を指標とした実験では同時マスクングが末梢聴覚系特に内耳のレベルですでに起こるものと考えられている。一方、temporal masking に関して近年 Elliott らの研究で一見 paradox とも考えられる backward masking が forward masking より強く起こるとの報告は興味深く、その生理学的機序を解明すべく本実験を意図した。音刺激条件は Elliott の方法と同一で、noise burst と test tone の rise-fall time はそれぞれ 5 msec と 1 msec 音持続時間は 50 msec と 10 msec で2音の時間差を変化させて test tone に対する応答性を調べた。聴ニューロン活動の記録は蝸牛神経核と中脳下丘から行なった。音刺激に対するニューロン応答は FM-テープに録音 OFF-Line computation あるいは写真撮影し、test tone に対する閾値の変化は CRO 観視下に測定した。A) 蝸牛神経核ニューロンの temporal masking は forward masking 効果のみが認められ (70~80 msec におよぶ)、backward masking は見られなかった。Forward masking はニューロンの一般的性質である post-excitatory inhibition とシナプス抑制によるものと考えられる。B) 下丘ニューロンでは forward および backward masking 効果が観察された。Backward masking として予測した4つのモデルのうち3型が確認された。下丘ニューロンの音強度と応答の

潜伏時間の関係および抑制シナプス機序が backward masking の成因に重要な役割を果しているものと推定した。

### 7. 着衣による発電および身体の帯電状況について

田部井トキ・菊地幸江(群馬大第1生理)

種々の線維特に化学線維の布地を材料とする被服の発電に関しては文献も少なくないし、発電の身体におよぼす影響等も種々議論されているが、従来の研究においては殆んどが、布地相互ないし布地と皮膚等を人為的に摩擦した場合の発電または帯電についてであって、それらの被服を着用した場合における発電状況等については全く知られていない。演者等はこの点に鑑みて被服着用時における発電または身体の帯電状況について実験したので報告する。実験方法は電極(銅板、5×2cm)を着衣と着衣の間の適当な部位(4カ所)に固定しまたは被検者の手に握らせ、これより入力抵抗の高い( $10^{10} \Omega$ 以上)の前置増幅器、直流増幅器を介して oscilloscope に導き被検者に種々の運動を行なわせながら発電または帯電状況を記録、観察したものである。尚、被検者は大地と良好な絶縁状態を保つようにした。

その結果は着衣の発電または身体の帯電は身体運動の相と平行する波形を以て示され、正負の方向に平等に振れる場合、正または負の方向を主とした場合等が現れた。振幅は従来から良く発電する布地として知られた化学線維を材料とした被服の場合には数 volt 以上に達する場合も現れた。しかし、この値はこれらの布地を人為的に摩擦した場合の値の10%にも達しないものである。また運動に直接関係する部位に置かれた電極から導かれる値は大きいがその他の部位から導かれる値は非常に小であった。身体の帯電についても化学線維の布地を用いた下着等の場合に振幅が大であったが、単に下着の布地の種類のみでなく上着の布地も関係あることが知られた。身体の帯電が皮膚に接する着衣と皮膚の摩擦に関係することは勿論であろうが上着の布地にも無関係ではない。

### 8. 心室カルシウム強直の抑制について

福田康一郎(千葉大第2生理)

摘出ガマ心室標本直接刺激条件下で、Ringer 液

カルシウム濃度を正常の約8倍にすれば、単一刺激に応じて高頻度振動波状の活動電位と、それに伴う心室の持続的収縮状態が招来される。

この現象の出現状況を詳細に調べるに、過剰カルシウム作用により刺激効果が局在化し、なおかつ興奮が心室全体に伝搬されうる可能性を残す場合においてのみ出現することがわかった。

興奮が全体に伝搬されうる余地は、procaine ( $5 \times 10^{-5}$  g/ml), tetrodotoxin ( $1 \times 10^{-9}$  g/ml) により阻止され、また過剰カルシウムによる反応の局在化は、低温、高K, epinephrine ( $1 \times 10^{-7}$  g/ml) で阻止され、いずれの場合にも高頻度振動波と心室の持続的収縮状態は出現しない。一方 Mn 8mM の添加では高 Ca による高頻度振動波

出現は阻止されない。

各種条件下で心室筋カルシウム含量を比較し、持続的収縮状態は高頻度振動波出現の結果カルシウムが心室筋へ蓄積される場合にのみ招来されることを知った。

以上の事実から、カルシウム強直現象は、過剰カルシウムにより興奮伝搬が部分的に block され興奮の reentry する可能性が生ずる場合にのみ生ずると考えられる。振動波の周期がおそい場合には明らかに心室粗動がみられる。かくしてカルシウム強直と呼んだ現象は電氣的粗動波が高頻度に生じた場合のことであり、むしろ高頻度粗動波による心室の持続的収縮と呼ぶべき現象と考える。



## 〔委員会〕

「生理学における教育状況の実態（日本生理誌3号掲載）  
調査結果 1-6」に関する検討

以下は、昭和44年6月26日常任委員会（仮）で検討した内容であります。ご覧のうえ、ご意見をお寄せ下さいますようお願いいたします。

教育委員会委員長 高 橋 憲

## 1. 副手（有給）について

「教官（教育要員）として、助手のほかにもこれがある筈だ。前のアンケートには落ちていた」

「副手-無給-研究生という考えで落ちたと思うが、それは重要なことだ。他学部出身者で、修士課程を了えていない場合に、副手（有給）で採用している」

「無給副手は、研究生・専攻生と近く教育職員とはいいい難いが、有給副手は勤務上助手に準ずる」

「副手のなくなっている大学が多い。アンケートに落ちたのはそのためではないか」

「しかし、例えば理学部出身者で、技術職でも、事務職でもなく、教育職員が妥当で、しかも修士を了えていない場合は助手にはなれないのではないか。有給副手のジツがなくては困ることが起こる」

「助手にとれるようになっていれば良い」

「修士終了と学部卒業と、いずれでもとれば良い。副手（有給）を残すか、いずれかだ」

〔結論〕生理学教室助手は不足し、他学部出身者数が増している。そのような、他学部卒業生（修士をとらない人）を、教育職員として採用する場合のために、助手にとれる道を講じておくか、副手（有給）を残しておくかしなければならぬ。

## 2. 他学部出身者の大学院受験試験

「大学院を充実するためには、他学出身者の受け入れが大事であるが、そのためにはこればかりしなないといけない。これには問題がある」

「大学によって態度に差がある。問題の箇所は、文部省告示39号補則口で、「大学の医学、歯学課程卒業者と同等以上の学力」とある、その「学力」の解釈にある。

他学の修士課程修了者が、例えば臨床について医・歯学課程卒業者と同等以上の学力を持つとは考えられないし、医・歯学の間も同等ではない筈である。それをここで採り上げているのは、「他系出身者も採りうる」ことを示す趣旨であることは明らかで、入学しようとする者についての学力を、いっそ「専攻科学の研究能力」と解するのが妥当であろう。

現在国立（7名）、私立（2名）にいるそういう大学院学生は、その解釈で認められたものと考えられる」

「いまの話にもあったように、医科の大学院に入学する者は、他系の修士課程を修了して（または修了見込みで）いなければならぬ筈だけれども、実際には、学部卒業だけの人も入っているのではなからうか」

「それは、研究生ではなからうか。研究生も一般には大学院学生に準ずる取扱いになっていると思うけれども、そうでない大学もあるのかも知れない」

「大学院にそういうことがあれば、それは違法だ。医学研究科は博士コースだから」

「医科系の大学院にも修士課程が必要だという話はある」

「それはあるけど、いまの学制では無理だ。それには、2年間で学部専門課程（例えば、医科学部）を終了とし、あとを修士・博士課程の大学院コースとし、臨床医学コースはこれと平行して、大学院コースにするのが良い」

「医科学大学院コース、臨床医学コースともに、他学部から入れるようにだな。将来はそうすると良い」

「いまのままでも、他学部出身者のために、修士課程をおくことはできるのではなからうか。その方が早い？」

「それにしても学制を変えなければ駄目」

「生理では問題ないが、病理系の大学院では、受験資格に医師免許証を必要とするものが1/2ある。必要としない所があとの1/2。これは私が調べた結果だから間違いない」

「ということは、その辺大学の一存で決まるとのことだね」

「そんなら無くても良いが本当だろう。医師免許証は希望条件ではあっても必須条件にはすべきでないだろう」

「なくても良い大学ではそういっている。免許なしで、十分にできる研究分野があるし、またそれが必要なんだ」

「同じことが臨床にもあるのではなからうか」

「医師と医学博士とは全く別個だからな」

【結論】(1) 他系大学院修士課程修了者には生理系大学院受験資格があるのが本当。ただし、学部卒業だけの者には現在は、その資格がない。

(2) 医学の大学院には、病理や臨床であっても、医師免許証のない大学院学生がおって差支えないし、むしろ望ましい。

### 3. 他系出身者の大学院入学試験

「他系出身者の入学を認めようとするならば、もう一つ、入学試験をどのようにするかが重要である。受験資格は認められても、試験の科目内容によっては、実際問題として他系出身者には入れない。

千葉では、生理系大学院に入る試験に、外国語と生理のほかに、病理学も臨床医学がある」

「それは前そうだったのか。いまもあるのか」

「いまもある。所が東大では語学と生理とだけだ。松田教授に聞いてはじめてわかった。千葉と東京の間にもこんなに大きな異いがある」

「アンケート結果報告の時、病理の人がいっていただけども、最終的には一つ一つ歩いて見なければわからない。今後はそういう問題ばかりかと思う」

「結局、試験の方法は各大学に委されているということだな。そんなら、他大学のやり方を参考にして、各大学が筋のとった良いものにすれば良い」

「こうあるべきだという形にしたい」

【結論】 他系出身(修士課程修了)者の入学を認めようという場合には、受験資格のほかに、入学試験の科目・内容に注意しなければならない。

### 4. 講座または教室の教育職員構成、医学部出身の助手は必要か否か

「アンケートの結果によると、医学部出身の助手は、ことに国立大学で、甚だしく少なくなっているのであるが、これは無くても差支えないのではないか」

「私もそう思う。極端に言えば、現在の「教授1, 助教授1, (講師1), 助手2 (または3)」という講座定員制が不都合ではないかと思う。どれほど能力があり、資格があっても、Sitzが空かないと上れない。教育職員合計何名で良い。それがすべて教授でも良い。1講座4~6名では少なすぎるが、それはまた別問題として」

「全部教授というような場合は主任が必要だ」

「全部教授でなくても『主任』は必要だろう。ついでに、講座単位もやめて、教科・教室単位でも良い」

「研究上では現に助手であっても独立な1単位としているのだから、それが講師になり、助教授になっても一向差支えない」

「研究にしろ教育にしろ、話し合って適宜協力し合うというのが本当だろうから、そのためには幅は広い方が良い」

「講座のままでもできないことはない。話し合いさえできれば同じだろう」

「文部省では1・1・4という構成を考えているそうだけれども……」

「その4が助手では人が求められない。先きのアンケートではっきりしている」

「医学部出身で大学院を終った人は講師以上。それで十分やって行ける」

「僕の所ではすぐ助教授になった人がいるが立派にやっている」

「そうなる と、技術員、事務職員が多勢必要になる。それは予算上許されないのではないか」

「しかし助手ではくる人がない。またよくできる人を何時までも助手にしておくこともできない。「助手」は偉いんだなどといって見てもはじまらない」

「それでは医学部出身の助手はいらないか？」

「医学部出身でも、大学院に入らないで、すぐ教職を希望する人もあろうから、それはあっても一向に差支えないだろう」

【結論】(1) 現在の講座一教室構成は、全体として教育職員何名とするのが適当ではないか。

(2) 医学部出身の大学院修了者には、講師以上の職が適当ではないか。

#### 5. 技術職員，事務職員について

「助手には定員があり予算があるのに人が求められない。ところが、一般職員の方は、定員も予算も少ないから、それ以上とるのは大変だけれども、兎も角人が求められる。助手との置換えにはならないが、これで多少とも教育、研究が進められているのではないかと思う。いまの段階で、この定員を増すことが是非必要だ。これは将来、教育職員が主として講師以上となればもっと必要になるだろうが、その時のためにも、いまから一般職員を養成しておく必要がある。

人事には人事院規則と予算と2とおりの枠があるけれども、現状では不十分なことしかできないのであるから、この枠はどうしても破らなければならぬ」

「事務員といっても普通の事務と異って、生産(研究)に直接つながる事務だから」

「定員にない一般職員はどこからその費用がでているのだろう」

「僕の所では『日々雇傭』というのでとってます」

「科学研究費などもあるが、額が少なくて駄目だな。それに1日500円だなんて——」

「生理には少ないと思うけれど、委託研究などで件費を向こうが持つ。あるいは雑誌の編集ということ——」

「余り感心しないね。日々雇傭というのは結局講座費からだすの？」

「それはそうですが、これは本人にとって仲なかい点がある。例えば、公務員試験受けて公務員にもなれるし、そうなれば、雇傭期間も公務員の勤務期間に入る。ホケン等もある」

「私学では費用の出所がないから、定員外はほとんどない。そのためであろうが、定員も国・公立より多少とも多くなっている」

【結論】 助手に人が求められない現状では技術職員、事務職員の定員数増加が必要ではないか。将来のためにもそれが必要ではないか。現状では、国・公(?)立大学の場合、「日々雇傭」という制度を利用するのが良い。

#### 6. 他系出身教育スタッフの教育

「他系出身の助手が増加している現状から考えて、これが現実の問題として必要だ。

長く医学部の生理の教育・研究にしたがって貰い、講師にも、助教授にも、あるいは教授にもなって貰おうというのであれば、最初の1年なり半年なり、例えば解剖実習とか、病理の授業とか、そういう医学教育の課程をフルタイムでやるとか、1週2〜3日やるとかするのが将来のために役立つのではないか。あとからではムツかしい」

「学内研修としてやっている所もある。講習会をやるとか。外国でもある」

「何をやるかは受け入れる学科による」

「入った人の出身学部にもよる」

「一般的には病理などが良いと思う。これは他の学部にはほとんどない」

「助手・副手として採用のあと有給のまま行なうわけね。教育の費用も本人は払わない」

「教育委員会としてはどうということになる」

「一応の標準課程をだしておけば良い。あとは各大学がそれを参考に、適宜やるように」

「何をどうやるかについて各大学の意見を聞くことが大事だ」

「そういう人も、ゆくゆくは大学院課程に入って貰って……」

「それが良い。奨学金が十分あれば、助手・副手も同じことになる」

「それまでの助手・副手？」

「それはあとまであっても良いのではないか。医学部出身の場合と同様だろう」

「菊地委員が助教授に何とかいっていたが？」

「他学部出身で助教授の人がいるから、その意見をきくようにということ」

【結論】 他系出身の教育スタッフに対して、採用後適切な医学教育が必要ではないか。そのカリキュラム標準を早急に作製することが必要と思われる。

#### 7. 基礎系大学院と臨床研修



臨床研修制度によって基礎系大学院入学者が圧迫されたとの意見が、先のアンケートにあったけれども、これは当たらないのではないかと。基礎系大学院の内容を魅力あるものとし、その条件（奨学金）を良くすれば問題にはならないと思う。

#### 8. 研究生・専攻生について

「アンケートに研究生専攻生とあったが、多くの大学で、専攻生はなくなっているのではなからうか。内容的には同じものと考えられるが」

「研究生は大学院に、専攻生は学部に入るのではなからうか」

「研究生は卒業直後の若い人でフルタイム、専攻生は年とってからパートタイムでくる？ いずれも学位を目標としている点は同じ……」

「研究生でもパートタイムのものがある」

「それでは学位授与の対称にならない」

「事実行なわれている。学位は持ち込み論文でも良い」

「持ち込みの場合は、権威ある機関である期間研究した結果でなければならない」

「専攻生というのはそういう場合のことか」

「いずれにしても助手（教育職員）とは、立場も仕事もすっかりちがう」

【結論】 研究生・専攻生の区別は明らかでなかったけれども、学位を目標とする研究者で、助手（教育職員）とは明らかに立場も仕事も異なる

〔海外だより〕

## カナダより

カナダについては余り日本の生理学会々員には知られておらぬと思われまふ。今回編集部から日本生理誌に“海外だより”の欄を設けるにあたりカナダ生理学会の近況について知らせてくれとのことゆえ丁度よい機会ですので簡単ながら筆をとった次第です。

カナダは戦前は2, 3の大学を除いては研究ら

という点では一様と考えられた。

#### 9. 基礎医学と生理・病理

「基礎医学といっても、生理、生化学、解剖学と病理、薬理、細菌……では多少相違がある。医学教育の将来を考える場合にそれが重要と考えられる」

「病理は臨床に入る。細菌や薬理も同様であろう。公衆衛生、法医学はまた別になる」

「ドイツでいまやっている分類も参考になる」

「病理は臨床に入ると普通いわれるが、これは基礎にも臨床にも入るのが本当だろう。現在はその力が足りないから、それが十分にできないだけのことだ。その意味で、生理についても同様ではないかと思う。あるいは病理以上にひろい面が、正常の生理と、病態の生理と（基礎）、それから臨床生理とが必要、これが本当だろう」

「将来のことを考えて、現状の中でその分化を進めることが必要であろう」

【結論】 医学教育の立場から生理学の適切な分化を考慮し、それを進める必要があるのではないか。

これ等の問題はいずれ適当なアンケートにまとめて大学関係の方々にご意見を求める予定である。

Department of Pharmacology  
University of Alberta Edmonton,  
Alberta, Canada

井上文武

しい研究は行なわれていなかったといっても過言ではないと思ひます。50年代の終りあたりからボツボツと研究方面に目を向けて来たように思われまふ。マニトバ大学は57年、アルバータ大学は62年に薬理教室が生理より独立しました。隣りのサスカチュワン大は多分薬理は独立した教室ではなく Department of Physiology and Pharmacology

となっております。

私は59年末にウニペッグ市のマニトバ大学の薬理に参りましたが当時は Dept. of Anat. and Physiol. とか Dept. of Physiol. and Pharmacol. という教室名をもつ大学がなく一世紀逆行したような気がしたのを憶えております。

現在医学部は13で内3校は仏語のみで講義が行なわれております。一学年40名から100名位で総人口24万人の割からすると日本と大体同じ率になりました。

こちらに来て以来ずっと薬理の教室で暮し生理のことは余りよく知りません。以下述べることは主として私の暮したマニトバ大とアルバータ大の薬理教室のこととなり生理学会々員の方々には余り興味ないかとも思いますが一般的には大体生理も似たようなものと考えられます。カナダでは現在でも違う Department の出身の者が移り変りするのは一般的な現象ですし、現在の教室スタッフの1/3は薬理学教室で学位をとった人ではありません。

#### 1. 研究の内容・研究生活等

一般的にいうと日本と違う所(10年前の日本とお考え下さい)は講義の必要上職員は大体専門の違う人を集めて課目の全域をカバーするように心掛けておるようです。各個人が専門が違うのでお互い間がスムーズにいくようです。数年前のMcGill 大の生理は大体日本の教室の如く一人の教授が統率し、集まる門下生も秀才が多いので教室内に活気がなかったように聞いております。薬理学教室出身でなくともきて2年もすれば可成り薬理の知識を身につけますが私はいつまで経っても林先生の薬理学を超えられないので“Fifth Wheel”の感をいただいております。2年程日本の薬理学の助教授の方が Post Doctor として当教室にきておりました。彼の意見はこの教室の仕事は日本の薬理の教室とは全く違いむしろ生理学の教室の仕事に近いと申しておりましたが、私の眼には全然生理学的とは思えません。薬理学そのものとしか思われません。日本の薬理の教室にいたことはいないのであるいは私の考えは間違っておるかも知れません。ブラウン管で35mmカメラを用いておるのは私一人で最近主任を始め、2,3の人が日本光電のカメラを購入しましたが、未だ働

いてはおりません。大多数はペンオッシュロで、キモグラフィオンを用いた仕事も少しくあり、マウスに注射しておる者もおります。生化学的な方面の方も大分おり、この方面は Probe を入れると後は自動的に結果がでてくるようで私などからみると大変楽のようにみえますが本人にしてみればそれなりに苦心はあるのでしょう。最近私の隣の住人は「日本人にはマイクロの仕事は向いておるな、俺にはとても1日中一人ぼっちでは暮せない。皆でワイワイ騒いで実験するのでないととても駄目だ」と申しておりました。

職員は8時半～9時にきて4時半～5時に帰りますが大学院の学生は大抵夫婦者ですから早く学位をもらわぬと生活にひびきますので一番張りきって夜中まで実験しております。大学院生は一人残らず少ないながら月給を貰っております。年3～4千5百ドルで十数人分は大学からで、その他は各々の Superwiser が面倒をみております。

#### 2. 研究室の構成人員・共同研究施設の利用法

教室全員は総てを含めて150名位。内スタッフは13名。大学院はマスターコースを含めて32名です。MDはスタッフ大学院生の中にも殆んどおりません。その他に写真スライド室および工作室には生理と共同で、動物小屋は医学部の共有らしく思われます。

室が大変狭いのが目下悩みの種です。われわれの教室は1973年まで全く space の拡張の望みはなく新しい建物は多分70年代の終りに着工されま

す。Post Doctor が7～8名おります。内3名は大学より俸給が支給されております。話が前後しますが当アルバータ州は10年程前に石油が開発され米国に土地を貸し、生産の上まえをはねて急に大金持ちになりました。10年前に税金の払い戻し、すなわち一人につき25ドルくれ、受け取りをとらないので25回貰った人もおるとい話も伝えられております。そういうわけで大学もかなり金廻りがよく Post Doctor にも金をだせるし、大学院学生にも月給をくれますし、当州出身(当州高校出身の意)の大学生にも奨学金がでます。私の末娘も毎年60ドル程貰いました。Post Doctor の当教室への割当ては3名です。

大学内での共同研究施設については私は知りま

せん。コンピューターの末端が各教室にあります。化学的な仕事は自動式の高価な機具を必要とするらしく教室の費用で購入して教室内で共同使用しております。

### 3. 研究費

御承知の如く研究費は大学より一文もありません。学生の教育には教室に費用がでますので実習用といってペンオシロや自動分析器などを購入しております。私の方にはこの恩恵は全然まわってきません。研究費の主体は大体 Medical Research Council で、1件平均6000ドル位で一昨年より急に審査が厳しくなりました。私は本年このMRCとHeart Foundationから合わせて2万7千ドル、大体Tektronix 502 A 2要素オシロ20台分を貰っております。教室主任は自己の研究費の他に大学院拡充計画などを申請して大量な金をうることもできます。当時マニトバ大の薬理のNickerson主任は米国より大学院の為に25万ドルもらっておりました。

### 4. 教育

生理も薬理も授業時間は減る傾向にあります。本年の薬理の時間は47時間、実習1週1回で12月に残り1月からは数名のグループにわかれて各staffについて一つのthemaで実験をしますが、spaceの点などで昨年よりそのalternationとして文献あさりのreportでもよいことになりました。11月中には各教員は実験題目、文献レポートの題目を提示し学生はその中より選択します。マニトバのNickerson主任(現在McGill大薬理主任)は実習の意義を認めない人で、したがってありませんでした。現在のMcGillの薬理も多分実習はないと思われます。

生理は事情が少しく異なります。と申しますのは体育学部の生理のコース、家政学部またはGeneral Science Course内の課目としてもありますので合わせると相当な時間となり実習も勿論ありますので、各人の負担は可成りの時間となります。

教室のDutyは、マニトバ大でも2、3の主だった人以外は余り負担はなく当教室も私のきた65年当時は殆んどありませんでしたが、最近はともふえてきました。各自一つ以上の仕事を分担と

いうことになっておりますが私はいまのところ何も受けもっておりません。一番大変な係は大学院係と学部学生の試験係、ずーっと下ってカリキュラム委員係などでしょう。尤も最後のものは英語さえわかれば、それ程大変とは思われません。おかしな大学でマトモな英語を喋る人の方が少ないといっちはいいすぎですが、とにかく日本では考えられない不思議な現象を呈しております。この点は書けば随分と面白い話があります。

### 5. その他

a. 社会情勢：現在の世界の情勢からするとカナダは全く平穏といっちはよいでしょう。ただしケベック州はフランス系の人種で前々から独立するといっちは騒いでおりましたが、近頃少しくその運動が激しくなったようです。平原三州〔マニトバ、サスカチュワン、アルバータ〕の大学の学生は一般におとなしく昨年カナダ全国の学生大会があった際、当大学の委員はCampus Riotに反対して途中から引き上げてきました。

本年に入ってから不景気の由にて今年の卒業生は就職に苦勞しておるとか。前に申した如くこの街は10年間に急激に大きくなった為に総てが不足勝ちで人手が特に足りません。病気になったら大変で医者がきてくれません。電話診断で間に合わせるそうで、これは明らかに医師法にもどると思いますが、この街ではよく行なわれているようです。医者の数が不足しておるのではなくて組合が開業を許さない為開業不足となっております。他都市ではこんなに医者不足の所は見当らぬようです。

b. 学会：生理学会員は400余名(1960年、150名位)で、この内可成りは薬学会々員を兼ねております。学会は本年(1969年)1月第1回冬期生理学会がモントリオール郊外のスキーResortで開かれました。演題数60題を2日間でこなしました。毎年6月にCanadian Federation of Biological Scienceの学会が開かれます。本年は当大学が当番でした。1960年頃は解剖・生理・生化・薬理の4学会より成立しておりましたが現在では栄養・癌・細胞学会が加入して賑やかになりましたが一面まとまりがなくなりました。単位学会は小人数で学会が開けぬのだと思われます。演題数はここ数年400題余で、1960年のマニトバ大主催の

時は120題でした。

お尋ねの点は大体以上に尽きると思います。色々調べて数字をはっきりすれば良いことは重々わかっておりますが、外国にいと仲々暇がありません。どうしてこう1日がすぐ経ち、振り返ってみると何もしていないことは驚く許りです。マイクロの仕事は技術員ができず、自分でコツコツしなければならぬのも一つの原因と考えられます。

カナダへ拙宅を尋ねてきた昔の仲間は年代順にウニベッグ時代に、東大岩崎博士(64)、エドモンソンへは札幌医大宮崎教授(66)、東大石河教授(67)で、67年モントリオールの学会では慶応の林教授にお目にかかり、本年(69)冬の生理学会で時実教授門下の川村博士(在デトロイト)に会いました。この9月初旬には主任の所へ1週間程、

昭和医大市川教授夫妻が滞在され、11月には九大の栗山教授が同じく主任の所へ実験の秘伝を伝えるに現われる由です。

尚62年に米子の岡田勝喜助教授と暮した1年間はいまふりかえっても大変楽しい月日でした。当学全体の日本人学生はPost Doctorも含めると30~50名位で、内当教室には大学より任命されたPost Doctorとして九大出身の太田博士が昨年9月より滞在しており、11月には東京医科歯科大心研より上山博士がHeart Foundat.のPost Doctorとして着任することになっております。

終りに当教室で電気生理的な実験で薬理のPh.Dを取りたい方、またはPost Doctorのレベルでマイクロ電極を用いた研究を希望の方がいましたら、微力ながら尽力致します。

(1969年9月23日)

## [書評]

### 皮膚感覚：D. Sinclair 著・市岡正道訳

医歯薬出版 A5判 418頁 4,000円 (1969)

東北脳疾患研 中 浜 博 評

本書は、'Cutaneous Sensation'の全訳である。著者 David Sinclair 博士は、現在 Aberdeen 大学解剖学教授で、皮膚感覚の組織学について活発な研究をしている。序文にも記されているように、本書は神経学とか心理学を専攻している人々のために書かれたものであるが、生理学、解剖学、内科学、皮膚科学などを専攻している人々とか、皮膚感覚について興味をもっている学生にも最適の著である。皮膚感覚に属する痛み一つとってみても、実地医家にとり大切な問題であるにもかかわらず、その神経伝導路さえ正確にはわかっていない。痛みを内科的、あるいは外科的に除くにはどうすればよいかという基礎的研究も乏しく、この重大な問題を経験によって解決しているのが現状である。いま迄、皮膚感覚についての研究に情熱を捧げる人々が多くなかったのは、皮膚があまりにも大きく、あまりにもありふれた器官であることによるのかも知れない。皮膚感覚の専門書が内外ともに、これまであまりみられなかったのは、

不思議なくらいであり、この点、本書の出版は時宜をえたものといえよう。

本書を通読して、豊富な内容を比較的簡単にまとめている記述に感心した。内容は、(1) 主要な学説と研究方法(47頁)、(2) 神経装置(84頁)、(3) 感覚(158頁)、(4) 研究の将来像を含む全般的な展望(27頁)に大別され、さらに12の項目にわかれ、各項目の終りには要約が1~2頁つけられており、項目の概要を把握するのに便利である。全体として解剖学に関する部分の比重が大きい、著者の専門分野による以外に、終末器一つとってみても組織学的に不明な部分が多く、たとえば温熱刺激のみに特異的に反応する終末器とか、固有の侵害受容器の存在さえ十分に立証されていない現状であり、これら解剖学的記述の多くなるのは当然であろう。解剖学の知識なくして機能を論じることが不可能である。著者は事実に関する莫大な量の知識をつみかさねいうちに理論を構成することの危険性を強調しているが、理論に合わせ

るために事実を曲げることが研究者になければ幸であると思う。

訳者により難しい用語や事項に脚注がつけら

れ、また本文中とか巻末に多くの参考文献があげられているのは研究者にとってありがたい。

### 〔編集後記〕

大学紛争のあらしの中で学会の土台にもひびが入ってきた。社会は絶えず変動し続けているのであり、片時の停滞も許されないはずだが、根本的な改革はなかなか自発的には行なわれにくいものなのであろう。生理学会でもその基本である会則に大変更が行なわれようとしており、そしてその改革の過程にはおそらくはいままで想像できなかったような、活発な論議が行なわれることであろう。本誌のあり方についても絶えず論議が行なわれてきたし、今後も続けられるであろう。

先号から海外だよりの欄がもうけられ、先号には浅沼氏がアメリカの、本号には井上氏がカナダの大学教育および生理学研究体制などを紹介しておられる。最近放送出版物等に世界各国の大学改革の現況についていろいろ紹介が行なわれるようになったが、生理学を中心としたものはないと思

う。おおいに参考にさせていただきたい。

毎月の編集委員会ではこのところ議題がたてこんでいる。投稿論文の採用不採用の決定という重大な問題もあり、編集委員は余りにも大きな責任を負わされているような気がする。総会の英文抄録号についても検討を続けければ続ける程各種の問題が派生し、なかなか完全な実現は困難である。しかしなんらかの形で従来の抄録号とは違ったものがだされることになるであろう。ただしこの問題の決定は編集委員会の権限外である。特集号「生物リズム」の実現の見とおしはほぼついた。

本誌の紙質を白色度のよいものにせよという希望は前から数多く寄せられていたが、10月11日の委員会で業者を入れいろいろ検討し、ただ白いだけでなく透明度の小さい上質紙を使わねばならぬことがわかった。これには費用の問題もあるが、来年から使用の運びに持って行きたいということになった。

(島山一平)

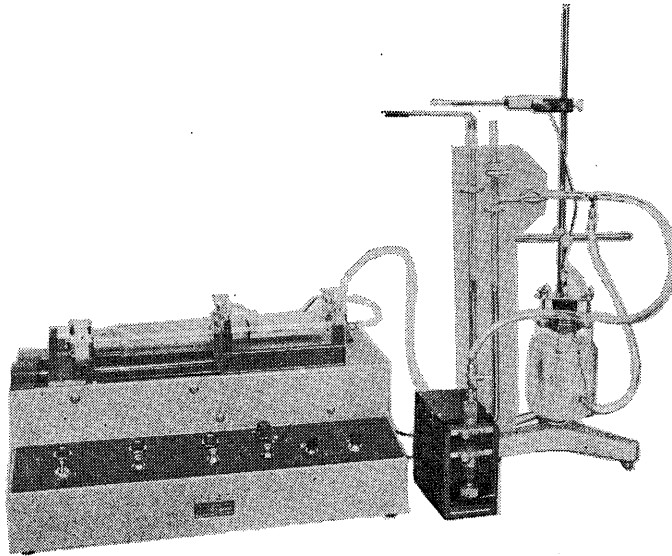
### 編 集 委 員

真島英信(幹事)	市岡正道	伊藤正男
菊地隼二	高橋 鷹	戸塚武彦
島山一平	望月政司(北海道)	星 猛(東北)
新島旭(関東)	東健彦(中部)	品川嘉也(近畿)
入沢宏(中・四国)	栗山 熙(九州)	

HAFFNER法

# 鎮痛効果測定装置

実中研 医学研究所 御指導



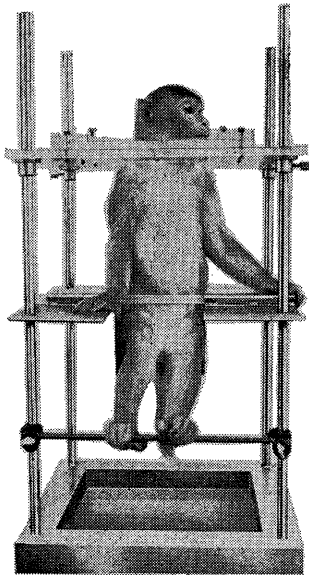
本装置は機械的的刺激によるマウスの仮性疼痛反応閾値上昇から薬物の鎮痛効果を測定する装置であります。

尾部に加わる圧力はモーターにより加圧されマンメーターにより記録されますので常に一定の加圧速度が得られ、かつ反応閾値を記録紙上で求めることができます。

## モンキーチェヤ

実験動物中央研究所

医学研究所 御指導



●本装置チェヤに依るモンキーの体重は3 kg～6 kg迄使用可能です。

●汚物を出す引出しが下部後方に付いています。

●ステンレス製 上部はアクリル盤

### 特別附属品

●チェヤ固定盤 600×600×21mm (木製)

### 特別附属品

●移動用固定盤 600×600×21mm キャスター4ヶ付 別途附属註文に応じます。

### 使用目的

(1)薬物の投与

(3)生体電気現象の誘導

(2)採血及採尿

(4)其の他無麻酔下で処置を加へる場合

**KANO** 株式会社 野上器械店

郵便番号113 東京都文京区本郷3丁目44～6 TEL(03)813-4811(代)

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 31, No. 10 1969)

**Originals**

Akinobu Endo : Membrane potential change during impalement of frog sartorius muscle .....601

Masaharu Sugitani : Intracellular recording of membrane potential in the myelinated nerve fibres .....609

Koh Higaki : Determination of the potassium ionic activity of potassium aspartate solution by using the potassium sensitive glass electrode. An electrophysiological study of the effect of L-potassium aspartate on renal tubular function of the rat (III).....617

**Short communication**

Hidenobu Mashima and Michitsugu Handa : The duration of the active state in the guinea-pig taenia coli .....627

Shizuko Iwasaki and Youko Satow : Spontaneous grouped discharge of secretory neuron soma in X-organ of crayfish, *Procambarus charki*.....629

昭和四十四年九月二十日印刷

編集  
集人

真島英信

印刷  
所

山形県鶴岡市山王町一四の二四  
平田 貞  
鶴岡印刷株式会社

発行  
所

東京都文京区本郷七丁目三の一号  
日本生理学会

定価  
八六四三〇  
円

**光電 医学のあらゆる分野に活躍する**

**データ処理用電子計算機  
ATAC-501-20型**

**主なプログラム**

- 加算平均
- 時間ヒストグラム
- 振幅ヒストグラム
- メモスコープ
- プログラムプッシュボタン切換式
- On-line方式
- 出力アナログデジタル両方式
- 自己・相互相関
- 移送平均
- データ移送
- 微積分



**日本光電工業株式会社**  
 東京都新宿区西落合1-31-4 (953) 1181大代

