

日本生理誌・第37巻3号・昭和50年3月1日発行（毎月1日発行）
〔昭和27年5月6日第3種郵便物認可〕

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

37巻 3号 1975

原 著

宮本健作：古典的防禦条件反射および回避性ペダル押し行動の脳波的研究…………… 45

短 報

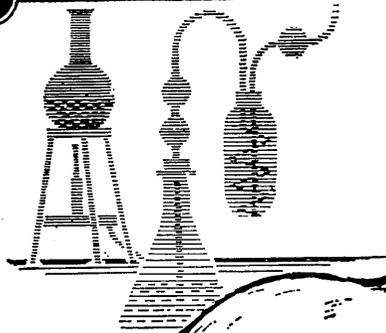
MATSUMOTO, H. YABU, H. and MIYAZAKI, E. : Ca-binding protein in
intestinal smooth muscle …………… 61

学会抄録 第25回西日本生理学会…………… 63

会 報 日本生理学会昭和49年度第2回常任幹事会…………… 71

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



ラット Donryu

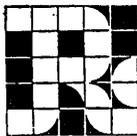
特長

- (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 Graft 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〉〈Buffalo〉

ドンリュウラット T.D 967394
Donryu-rat T.D 995227



日本ラット(株)

埼玉県浦和市根岸608-3
TEL(0488)61-6850・6401

古典的防禦条件反射および回避性ペダル押し行動の脳波的研究

612. 822. 3 : 612. 833. 8

宮 本 健 作

(大阪大学医学部第二生理学教室・現在：独協医科大学医学心理学研究室)

Electroencephalographic studies on classically conditioned defensive reflex and avoidance lever-pressing in the dog Kensaku MIYAMOTO

(Department of Physiology, Osaka University School of Medicine, Osaka • Present address: Department of Medical Psychology, Dokkyo University School of Medicine, Tochigi)

Six dogs with implanted cortical and subcortical electrodes were trained to press a lever to avoid electroshock to a hind leg. Intracerebral stimulation at low frequency was delivered as an "indifferent" or a "CS" tracer. Changes of EEG responses to the tracers prior to the voluntary lever-pressing or the conditioned avoidance lever-pressing were examined by continuous frequency analysis. (1) Evoked potentials to the tracer stimulation were changed just before the conditioned defensive reflex, the voluntary lever-pressing and the conditioned avoidance lever-pressing, regardless of the site of the tracer stimulation. (2) The cortical and subcortical structures (Hippo, RF) seemed to be involved in the neural circuit responsible for the avoidance lever-pressing, whereas the sensorimotor cortex may be essential in the circuit for the alimentary lever-pressing. (3) The avoidance lever-pressing and the EEG response to the "CS" tracer were influenced by the internal inhibition (experimental extinction, inhibitory after-effect of the negative CS to the positive CS, delayed conditioning). The inhibitory mechanism was discussed.

[J. Physiol. Soc. Japan (1975) 37, 45-60]

key words : conditioned defensive reflex, avoidance lever-pressing, evoked potential, EEG-frequency analysis, internal inhibition.

I. 結 言

先に著者²⁾³⁾は脳内低頻度電気刺激を条件刺激("CS" トレーサー)として条件づけた食餌性ペダル押し行動直前の脳波活動を連続周波数分析法を用いて研究し、随意性ならびに条件反射性ペダル押し行動(CR)に先行して、皮質および皮質下の広汎な構造に脳波活動の変化が現われることを認めた。次いで、これらの脳波変化はペダル押し行動の発現に参加するニューロン回路に発生した、いわゆる「運動電位」(Motor-Potential; "MP")によって生じると考え、これらの"MP"の出現時点、その大きさなどの性質を明らかにするため、次のごとき二つの方法を試みた。すなわち、その一つは動物のペダル押し運動に関係のない静止時における"CS" トレーサーに対する誘発電位(Ep)を「対照」として、この「対照」Epと"MP"によって変

化されたEpとの相関係数を求めることにより、"MP"の発生時点ならびにその変化の時間的経過を知る方法であり、他は"MP"の発達の様相を知るために、Epの速成分および遅成分の増減(「対照」Epとの差による)の状態を等高線でもって地図に表現する方法である。これらの方法によってトレーサー刺激点とEp導出点との間のニューロン回路に発生したと考えられる"MP"の型を皮質および皮質下のそれぞれの領域について示した(Yoshii et al.¹⁷⁾¹⁸⁾²⁰⁾²³⁾²⁴⁾、吉井たち¹⁹⁾²¹⁾²²⁾。

本論文においては、著者は食餌性ペダル押し実験に用いた同じ動物について回避性ペダル押し行動を学習させて、そのCR直前に現われる脳波反応の変化を連続周波数分析法を用いてしらべた成績について述べ、併せて食餌性ペダル押し行動時の脳波反応の変化と回避性ペダル押し行動のそれとの比較について述べる。ここに述べたペダル押し行動(EMG)に先行して認められた脳波変化は上述の「"MP" 相関法」および

「MP」地図」で示された変化の最初の部分（A波と仮称した）に相当すると考えられる。

II. 実験方法

本実験には6匹のイヌ（雑種，成犬）を用いたが，この中5匹は先の論文²⁾³⁾に述べた食餌性ペダル押し行動を条件づけた動物である。慢性電極ならびにその挿入部位についてはすでに詳述³⁾したのでここでは省略する。

実験手続：食餌性ペダル押しに関するすべての実験が終了した後，続いて次の計画にしたがって実験を行なった。

A. 回避性ペダル押し行動への転移訓練

本実験に先立ち，各動物について，右前肢による右ペダル押し（先に条件づけた食餌性ペダル押し）から左前肢による左ペダル押し（今回条件づけようとする回避性ペダル押し行動）への学習の転移を目的として訓練を行なった。先ず，光刺激を約1秒間呈示し，このシグナルに対して，実験者の手によってイヌの左前肢を左ペダル上に“誘導”して受動的に2～3回ペダル押し運動を施行した。このような“誘導”試行を約2分間隔で20～30回反復した後，“誘導”回数を徐々に減じ，遂には誘導することなしに光刺激呈示後10秒間以内に動物は能動的に自発性ペダル押し運動を示した。その段階で，もし動物が光刺激に対してペダル押しを行なわなかった場合には，左後肢に電撃が与えられた。このような手続により，多少の個体差は認められたが，いずれの動物も訓練開始後7日以内には左前肢による回避性ペダル押し行動を完全に学習した。

B. 随意行動メカニズムの観察（“不関”トレーサー法による）

トレーサー刺激には，先の食餌性ペダル押しの場合に用いたトレーサー刺激の頻度を7.5 c/sec から13.5 c/sec に変えて（ある動物では刺激頻度は7.5 c/sec のままで，刺激部位のみを変えた）使用した。外見的には動物に影響を与えない程度の脳内電気刺激，いわゆる，“不関”刺激トレーサーを20～30分間連続的に与え

ると，その刺激中に前述の光刺激が呈示されなときでも，動物はしばしば自発的に左前肢で左ペダルを押して左後肢の電撃を回避しようとした。この随意性ペダル押し運動およびそれに先行して現われた古典的防禦反射直前の脳波変化を知る目的で，皮質，皮質下脳波の連続周波数分析を行なった。分析に際しては，予め，実験中の皮質および皮質下脳波を左前肢の筋電図（EMG）と共に磁気テープに収録し，その後必要な部分を再生し，先の論文²⁾³⁾に述べたと同様の方法にしたがって処理した。

光刺激を与えたときに現われた回避性ペダル押し行動（CR）については，その行動直前の脳波変化（トレーサーに対するEpの変化）の中には行動発現に直接関係した運動電位による変化のみでなく，光刺激による情緒的变化も含まれていることが考えられるので，このCRは除外した。

C. 条件行動メカニズムの観察（“CS”トレーサー法による）

刺激頻度を何ら変更することなく，“不関”刺激トレーサーを“CS”トレーサー（条件刺激）に転換し，その10秒間刺激の終了と同時に電撃（US：無条件刺激）を左後肢に与えて強化した。（それゆえ，この場合には光刺激は与えていない。）動物は10秒間の“CS”呈示中にペダル押し（CR）を示したときのみUSを回避することができた。このような回避性ペダル押しが現われる直前の脳波を前と同様な方法で処理した。強化過程の試行間隔は平均2分で，CSは1日20～30回与えられた。

D. 内制止

1. 実験的消去

回避性CRの出現率が条件づけ基準（1日の全強化試行についてのCR出現率が100パーセント水準で連続3日間）に達した後，CRの有無に関係なく非強化試行を連続的に約30～60秒間隔（常に脳波活動を観察しながら，動物の頭の動き，その他による人工産物が介在しない時点でCSを与えるようにしたので，試行間隔を一定にすることは出来なかった）で消去基準

(7 試行連続して CR が消失) に至るまで反復した。

2. 延滞条件づけ

2 匹の動物について、条件行動が確実に形成された後、CS の持続時間を前述の10秒間から最大40秒間まで漸次延長し、延滞条件づけを行なった。もし CR が現われなかった場合には、CS の終了と同時に US を与えた。このような手続を行なうことにより、CR の出現時点が次第に遅延し、最終的には、CS 開始後、35秒ないし40秒延滞させることができた。

3. 陰性 CS 先行呈示による CR の抑制

CR の抑制実験に先立ち、従来の陽性 CS と陰性 CS (陽性 CS 部位とは別の皮質下構造に100 c/sec 刺激を与えた) との分化を行ない、100パーセント水準で分化が完成した後、10秒間の陽性 CS の前に約4~5秒間の陰性 CS を先行させた。この実験期においては、3種の試行すなわち、陰性 CS のみ呈示、陽性 CS のみ呈示および陰性 CS+陽性 CS (継時呈示) の各試行について同じ回数をランダムに行なった。このような操作により、陽性 CS に対する CR は漸次抑制されるようになったが、たとえ動物が陽性 CS 呈示中に CR を示さなくても US は与えられなかった。それゆえ、この組合せ実験は1日の実験系列中で極めて稀に行なった。

すべての実験が終了した後、脳組織標本を作成し、皮質下電極部位を確認した。

III. 実験成績

A. 自発性足踏み運動の脳波

視床後外側腹側核 (VPL) の13.5 c/sec 刺激を“不関”トレーサーとして与えて、動物がその刺激中に自発的に足踏み運動 (実験架台に立った動物の側の前肢、あるいは両側前肢の足踏み運動は特に明らかな目的のない、一種の無意味行動と推定される) を示す時、これらの運動が出現する直前の脳波について連続周波数分析を行なった結果を Fig. 1(a) および (b) に示した。Fig. 1(a) は外見上極めて弱い足踏み、Fig. 1(b) は比較的強い明瞭な足踏みで、いず

れも同じ日の同じ時間的連続に現われた運動 (第9回目および第10回目の運動) 時の脳波記録である。Fig. 1(a) では、運動直前に皮質知覚運動野 F_1 (SA_1-SP_1) でトレーサー刺激の基本波成分 (13.5 c/sec) が増大 (タテ線が示す運動発現時点を基準にして前2秒間の範囲内で、運動直前すなわち後半1秒間を前半1秒間と比較して) し、 F_1 よりさらに後外側に当る F_2 (SA_3-SP_3) においても、この成分にはきわめてわずかながら増大がみられた。また、海馬 (Hippo) ではこの13.5 c/sec 成分はほとんど現われませんが、運動が現われる1.5秒前にわずかながら現われ、足踏み運動の直前で減少した。さらに、内包 (CI) では13.5 c/sec 成分は安定して出現し、ほとんど変化しないが、運動直前にわずかに減少するのが認められた。一方、1/2 同調波成分 (6.5 c/sec) は F_2 において行動直前に増加した、同時に、海馬性シータ波成分 (4.5あるいは5.5 c/sec) は F_1 で減少し、 F_2 で増大した。また海馬では減少し、後頭部 O (L_1-L_2) 脳波は海馬のそれに類似した経過を示した。Fig. 1(b) では、 F_1 (SA_1-SP_1) の13.5 c/sec 成分は Fig. 1(a) に比較して運動発現にかなり先行した時点より現われ、足踏み運動の直前ではほとんど変化しなかった。同時に、海馬同期波成分は運動の発現以前より現われた Fig. 1(a) の場合と異なり、足踏み行動のおよそ3秒前から出現しはじめ、運動直前に著明に増強された。前述のごとく、Fig. 1(a) の CI における基本波成分は比較的持続的に、かつ安定して現われ、運動直前にもほとんど変化を示さなかったのに対し、Fig. 1(b) では、CI の13.5 c/sec 成分は運動発現の約3秒前から明瞭に増大した。一方、海馬脳波は Fig. 1(a) と同様の傾向を示し、かつその基本波成分 (13.5 c/sec) は Fig. 1(a) のそれよりもわずかに増強された形 (運動発現の7~8秒以前より出現) で出現した。しかしながら、側頭部 (T: ES_1-ES_2) においては、その変化は必ずしも運動の大きさに関係はなかった。

これらの成績から、1) 自発性足踏み運動の

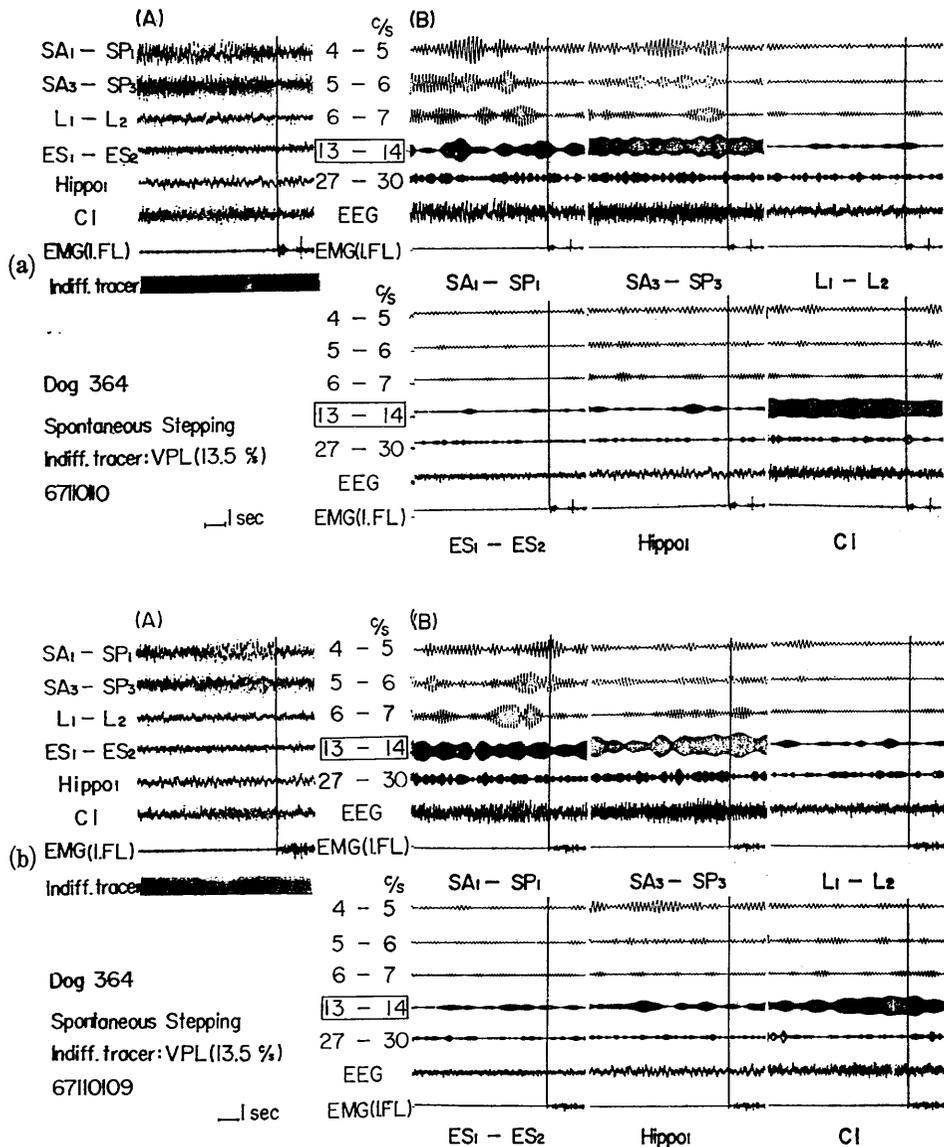


Fig. 1. Changes in frequency components of EEG responses to "indifferent" tracer (electrical stimulation independently of conditioning, which must produce no overt behavioral response but enough evoked response in the cortical and subcortical areas, to VPL at 13.5 c/sec, 0.05 msec, 5 V) prior to spontaneous stepping, Dog 364. VPL = nucleus ventralis posterolateralis; SA = gyr. sigmoideus ant.; SP = gyr. sigmoideus post.; L = gyr. lateralis; ES = gyr. ectosylvius; Hippo = Hippocampus; CI = capsula interna; EEG = electroencephalogram; EMG = electromyogram; 1. FL = left forelimb. (A): Original EEG records. (B): Six EEG traces in (A) are respectively frequency-analyzed in corresponding leads. Vertical lines in each record show onset of stepping movements. Note the increase or decrease of the frequency specific components (6.5, 13.5 and 27 c/sec) and iso-hippocampal theta (4.5 or 5.5 c/sec) components just before a weak stepping (a) and powerful one (b). See text for explanation. Abbreviations are the same in the following figures.

際、その発現以前から皮質および皮質下構造の脳波活動が広汎に変化する。2) 脳波反応が運動の大きさに関係して変化する部位は前頭知覚運動野、および皮質下領域では海馬と内包で、ことに内包の変化は明瞭であることが示された。

B. 条件づけの経過と防禦性および回避性条件行動の出現

“CS” トレーサーと左後肢への電撃 (US) とを組合せて回避性ペダル押し行動を条件づけた場合、その強化過程の経過中に行動面で次に述べるごとき3段階の変化が観察された。

まず、回避性ペダル押し行動が完全に条件づけられる前、すなわち、条件づけの初期においては、左前肢の古典的防禦条件反射がきわめて容易に出現した。これら二つの CR を便宜上、出現する時間関係から、古典的防禦 CR を防禦性 CR₁、回避性ペダル押し CR を回避性 CR₂ と呼ぶことにする。防禦性 CR₁ は回避性 CR₂ が次第に現われるようになってからもこれに先行して(ほとんどの場合、CR₂ の直前) 明瞭に出現した。次に、条件づけの進行と共に、CR₂ の出現が促進されるのに対し、CR₁ は漸次抑制され、CS の呈示開始時のみ短時間現われ、その数秒後に示される CR₂ の直前には出現しなくなった。さらに、回避性ペダル押し条件づけの完成期において、回避性 CR₂ が確実に形成されると、CS 開始直後にみられた著明な防禦性 CR₁ は消失し、きわめて弱い不明瞭な CR₁ を伴った CR₂ がほぼ一定の時期に、かつ安定して現われるようになった。しかしながら、CR₂ の実験的消去を行なうと、著明な CR₁ が再び一過性に出現した。

C. 皮質知覚運動野における誘発電位

回避性ペダル押し行動に先行して常にトレーサー刺激に対する Ep の変化が認められたが、その波形の変化の1例を Fig. 2(a) および Fig. 2(b) に示した。Fig. 2(a) は VPL の 13.5 c/sec 刺激を “CS” トレーサーとした場合の回避性ペダル押し行動における前頭部皮質知覚運動野 (F₁, F₂) の記録で、Ep の波形は F₂ では、ペ

ダル押しの左前肢 (l. FL) EMG に先行して棘の部分は振巾を減じ、同時に徐波形もその振巾をわずかに減弱した形に変化した。F₁ においてもその脳波反応はペダル押し EMG に先行して不明瞭ながら変化した。このような中枢性 CR (Ep 波形の変化) が現われてから末梢性 CR (ペダル押し前肢の EMG 活動の発現) が出現するまでの遅れ時間は、強化過程の進行と共に条件づけの初期に比べて短縮し、CR の確立期にはもっとも短かく、かつ試行毎に一定した。また、別の動物で前例と異なった部位、すなわち、被殻 (Pu) に異なった頻度 (7.5 c/sec) でトレーサー刺激を与えた場合においても、F₁ ではペダル押しの EMG 直前の Ep 波形 (Fig. 2(b)) は、棘の部分と徐波形の部分が共に振巾を減弱した形で変化した。F₂ では CR₂ のペダル押し EMG に先行して現われた CR₁ の持続的緊張性の EMG 活動に平行して棘の振巾に抑制性変化が認められた。また、CR₂-EMG の直前では棘の振巾が著明に増強された。

D. 随意性防禦反射および回避行動の脳波

Fig. 3 は “不関” トレーサーとして、上述のごとく、覚醒安静時の動物に外見上行動的には何ら影響しない程度 (刺激中でも通常の飲水ならびに摂食行動を示す) の強度で VPL 刺激 (13.5 c/sec) を持続的に与えた状態で、イヌが後肢への電撃を回避するために随意的に示した回避性ペダル押し、およびそれに先行する防禦性 EMG が出現したときの脳波活動について連続周波数分析を行なった成績を示している。防禦反射 (Fig. 3 中の点線でその発現時点を示す) 直前の脳波変化と回避行動 (実線でその発現時点を示す) のそれとを比較すると、まず、基本波成分 (13.5 c/sec) は F₂ において前者 (点線で示す)、後者 (実線で示す) の両行動の場合共に増大した。次に 1/2 同調波成分 (6.75 c/sec) は、F₁ における防禦反射の場合は減少したのに対し、回避行動の場合には増大した。さらに 2 倍同調波成分 (27 c/sec) は、F₂ および Hippo において前者の場合に増大し、後者の場合には逆に減少した。また、海馬シータ波成分 (4.5

Evoked Response in Sensorimotor Cortex
to VPL Stimulus 13.5 %s (Avoidnce LP)



Evoked Response in Sensorimotor Cortex
to Pu Stimulus 7.5 %s (Avoidance LP)

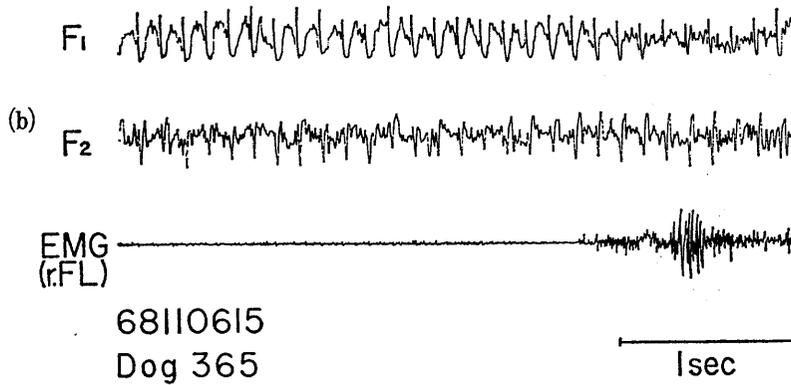


Fig. 2. Changes of evoked potential (Ep) to "CS" in posterior sigmoid gyrus (medial area : F₁, lateral one : F₂) induced before the avoidance lever-pressing. "CS" was the VPL-stimulation (13.5 c/sec, 0.05 msec, 5.5 V) in (a) and Pu-stimulation (7.5 c/sec, 0.06 msec, 6.5 V) in (b). r. FL = right forelimb ; Pu = putamen. Note that, except F₂ in (b), the Eps were changed to low voltage activity before the lever-pressing EMG.

c/sec) は、F₁ において防禦反射の直前 (点線の前) では増大し、回避性ペダル押しの直前 (実線の前) では減少するのが認められた。

E. 防禦条件反射 (CR₁) および回避性ペダル押し行動 (CR₂) の脳波反応

前実験に使用したと同じ動物を用いて、トレーサー刺激のパラメーターを何ら変更することなく、“不関”トレーサーを“CS”トレーサーに転移した場合の防禦性 CR₁ (小振巾の EMG, その出現開始を点線で示す) および回避性 CR₂

(大振巾の EMG, その出現開始を実線で示す) 直前の“CS”トレーサー (VPL の 13.5 c/sec 刺激) に対する脳波反応の変化を Fig. 4 に示した。この図では、皮質知覚運動野 (F₁, F₂) における基本波成分 (13.5 c/sec) の変化が随意性行動の場合 (Fig. 3) のそれに比べて、きわめて明瞭に出現しており、CR₁ の出現 (点線) 以前には F₁ (SA₁-SP₁), O (L₁-L₂) および CI 脳波は 13.5 c/sec 成分が減少した。一方、CR₂ が現われる (実線) 直前では、F₁, F₂, O において

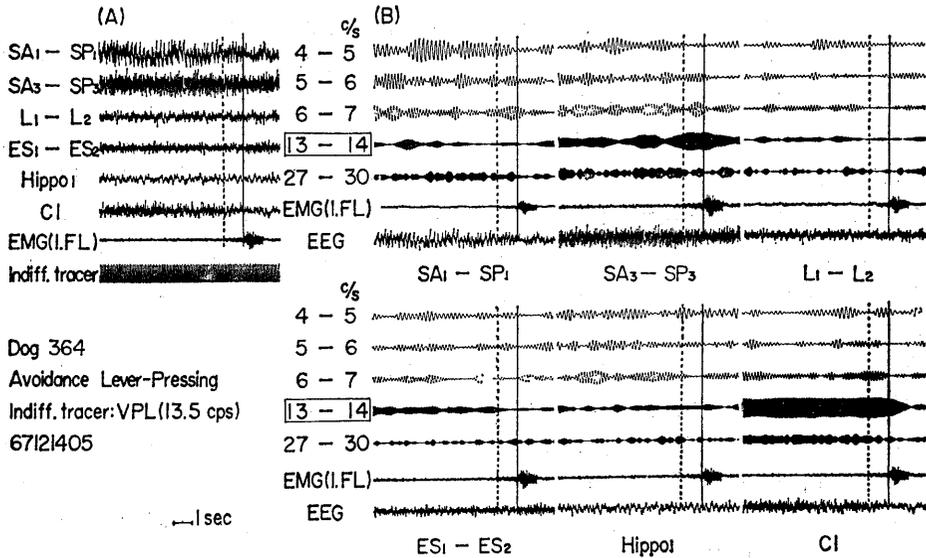


Fig. 3. Changes in frequency components of EEG response to "indifferent" tracer (VPL stimulation with the same parameters in Fig. 1, with no overt behavioral responses) prior to the appearance of voluntary lever-pressing movements in Dog 364. Dotted lines in each record show onset of the classical defensive EMG (CR₁) and solid lines show onset of the avoidance lever-pressing EMG (CR₂). Note the increase of fundamental component (13.5 c/sec) in F₂ (SA₃-SP₃) lead and the change of iso-hippocampal theta component (4.5 c/sec) in F₁ (SA₁-SP₁) before the defensive and the avoidance EMG activities.

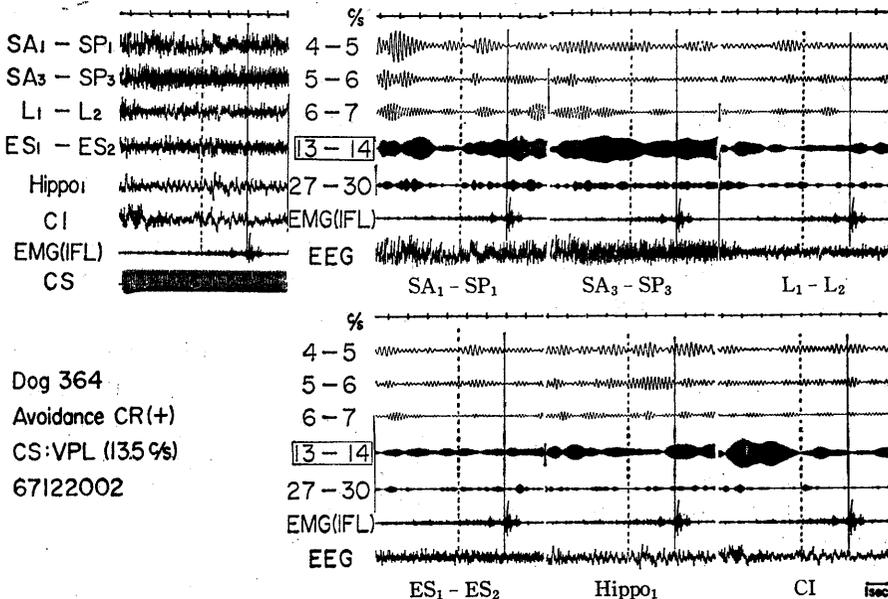


Fig. 4. Changes in frequency components of EEG response to "CS" tracer (electrical stimulation to VPL with the same parameters as "indifferent" tracer) in Dog 364. Note remarkable decrement of fundamental frequency component (13.5 c/sec) prior to CR₁ (dotted lines) in F₁ (SA₁-SP₁), O (L₁-L₂) and CI leads. Slight decreases of the same components in F₁, F₂ (SA₃-SP₃), O and CI, and clear increase in hippocampus were shown before CR₂ (solid lines). Note the difference between the changes of 13.5 c/sec component in CI from those in Fig. 3.

この成分はわずかに減少したのに対し、Hippo においては著しく増大し、CI では減少した。海馬性シータ波成分については、Hippo 脳波で 5.5 c/sec 成分が CR₂ 直前に増加し、F₁ および F₂ では減少した。

Fig. 3 ならびに Fig. 4 の両図を比較して注目されることは、ペダル押し運動に先行して観察された主要な脳波変化、ことに基本波成分 (13.5 c/sec) の変化は随意運動の場合、皮質領域 (F₂, T) では認められるが、皮質下構造 (Hippo, CI) では認められず安定していた (Fig. 3) のに対し、条件反射性行動の場合には、皮質脳波のみならず、皮質下 (Hippo, CI) 脳波のきわめて明瞭な変化 (基本波成分の減少、あるいは増大) が左前肢の EMG 活動に先行して現われ (Fig. 4)、随意行動の場合 (Fig. 3) と著しく相違したことである。

同様の成績は別のイヌ (No. 360) を用いて、視放線 (OR) あるいは海馬 (Hippo) の刺激をトレーサーとした場合にも認められた。このように、CR 性行動の場合には、その直前に認められる脳波変化は Hippo, CI などを含む皮質下構造において、随意性行動に先行する変化とはまったく異なる様相を呈し、このことは条件行動の形成ならびにその発現に皮質下構造が直接関与することを示唆する。

Table 1 は CR₂ に先行して現われた脳波反応の変化、とくに種々の“CS”トレーサーに対する CR 性ペダル押し (回避性 CR₂) の直前に変化を示した共通の部位をまとめたものである。Table 1 に示されるごとく、各動物を通

Table 1. Areas where the EEG responses commonly changed to different “CS” tracers prior to the avoidance lever-pressing in five experimental animals

Dog	CSs	Commonly changed areas
359	Od, CI, Hippo, RF	F ₁ , F ₂ , O, T, CI, Hippo, RF
360	CC, Hippo, OR, RF	F ₁ , F ₂ , T, T, CC, Hippo, RF
361	Hippo, LP1, VA, VPL	F ₁ , F ₂ , O, T, LP2
362	OR, PF, VPL	F ₁ , F ₂ , O, Hippo, PF, VPL
364	CI, VPL	F ₁ , F ₂ , Hippo, RF, CI

じて、条件刺激部位に関係なく共通的に、皮質知覚運動野 (F₁, F₂) の脳波は常にペダル押し行動に先行して変化した。F₁, F₂ のみならず、他の皮質連合野 (O, T) ならびに皮質下諸構造 (Hippo, RF, CI, CC, LP₂, Pf, VPL) もまた同様の傾向を示した。このことは回避性ペダル押し行動の条件づけおよびその遂行には、皮質および皮質下構造の広汎な領域が参加することを示唆する。

F. 回避性ペダル押し行動の内制止過程における脳波変化

ある動物について、実験的消去あるいは延滞条件づけ、さらに陰性 CS の附加などの操作を行なうことにより、ペダル押し行動に対し、いわゆる内制止過程を働かせた場合における脳波変化をしらべた。

1. 実験的消去

消去実験に用いた CS 部位は動物によって異なるが、視床 VPL 核の 13.5 c/sec 刺激を“CS”トレーサーとして回避性ペダル押し行動を条件づけた後、引き続いて行なった実験的消去過程の初期においては、動物は US を与えられなかった試行を経験すると、しばらくの間、正確な CR を示し、その後ペダル押しを示さない試行が現われて、漸次 CR が消失し、遂には無反応の連続試行に移行した。このように消去制止の下で、しばしば通常強化過程の場合と同様な CR が出現するが、Fig. 5 はその 1 例の脳波反応およびその周波数分析の結果を示している。消去前の強化試行例 (Fig. 4, 対照例) ならびに同動物の消去初期の CR 出現例 (Fig. 5, 消去中の CR 出現例) を比較すれば明らかのごとく、これらの CR は共にまったく同一の“CS”トレーサーによって誘発された回避性ペダル押し行動であるにもかかわらず、これらの 2 試行についての周波数分析の結果は、とくに基本波成分の変化に関して相違が認められる。すなわち、対照試行例 (Fig. 4) の F₁, O, CI 脳波では、CR₁ (点線) 直前に 13.5 c/sec 成分の減少がみられ、CR₂ (実線) 直前には、F₁, F₂, O においてわずかな減少、また Hippo におい

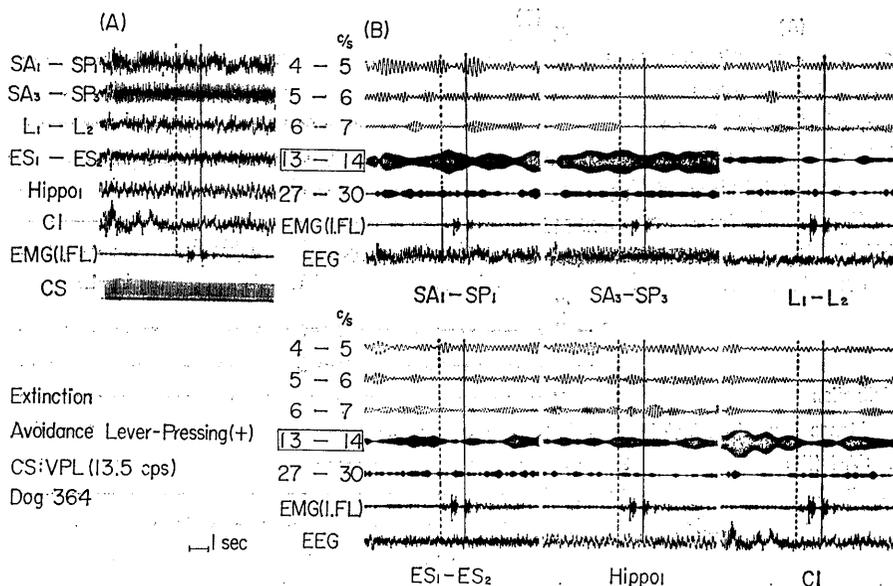


Fig. 5. Appearance of CRs shown by Dog 364 in the early stage of experimental extinction. In contrast with the EEG changes in the control trial (Fig. 4), increases of fundamental frequency component (13.5 c/sec) were shown in F_1 , F_2 , T and Hippo EEGs prior to CR_1 (dotted lines) and decreases in F_1 , F_2 , O, T and CI ones just before CR_2 (solid lines).

て同成分の増大が観察されたのに対し、消去中のCR陽性例 (Fig. 5) では、このような傾向は認められず、むしろ対照例とは逆に CR_1 直前の F_1 , F_2 , T (ES_1-ES_2), Hippo の基本波成分は増大を認めた。また、 CR_2 の直前には、 F_1 , F_2 , Hippo は対照例に明瞭に反対する傾向を示し、他の領域 (T, CI) ではむしろ同傾向が認められた。一方、消去過程の末期におけるCR消失例 (Fig. 6) では、防衛性 CR_1 ならびに回避性 CR_2 の完全な消失に伴ない、脳波反応においては、 F_1 , F_2 および CI の基本波成分の出現は著しく減弱し、CR出現例 (Fig. 4, Fig. 5) とは明瞭な相違が示された。

2. 延滞条件づけ

脳梁 (CC) の 7.5 c/sec 刺激を “CS” トレーサーとして、30秒間の延滞条件づけを行なった動物 (No. 360) の延滞CRの脳波とその周波数分析の結果を Fig. 7 に示した。延滞実験においても軽度の防衛性条件反射 CR_1 (点線) が先行して現われ、回避性ペダル押し CR_2 (実線) は遅く出現する。この延滞実験では、いわゆる

制止相 (CSの呈示開始時より点線で示した CR_1 の出現直前まで) においては、皮質および皮質下脳波に徐波が認められたが、CS呈示開始後およそ20秒に出現した CR_2 (実線; ペダルの動き) 直前のいわゆる、興奮相 (点線の直前から点線と実線との間) では脳波の脱同期が認められ、7.5 c/sec 基本波成分は全導出脳波で減少した。しかしながら、 CR_2 の直前では、この 7.5 c/sec 成分は (SA_1-SP_2) においてのみ徐々に増大した。また、その2倍同調波成分 (15 c/sec) は (SA_1-SP_2), (SP_2-ES_1), (ES_1-ES_2) および (OR-RF) 脳波で減少した。併せて、海馬性シータ波成分 (4.5 c/sec) は CR_2 の直前において、皮質下構造では (OR-RF) および Hippo 脳波において著明に増強されるのが認められた。

次に、Table 2 および Table 3 は消去および延滞の内制止過程において CR_1 (Table 2) ならびに CR_2 (Table 3) に先行して脳波反応が変化した領域を種々のトレーサー刺激部位についての成績をまとめたものである。明瞭な脳波変

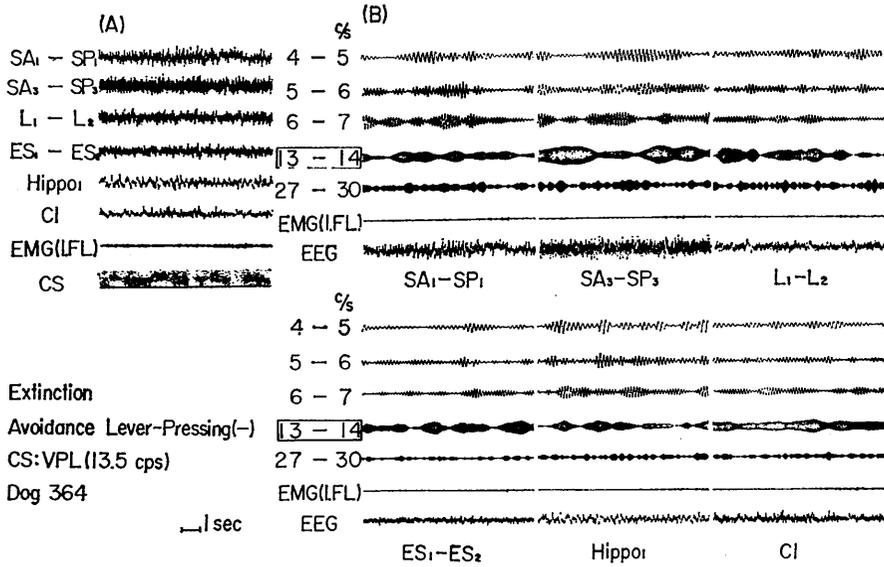


Fig. 6. Disappearance of CRs in the late stage of experimental extinction. In comparison with those cases of CRs appearance (Fig. 4 and 5), poor amplitude of 13.5 c/sec component were shown in F₁, F₂ and CI EEGs.

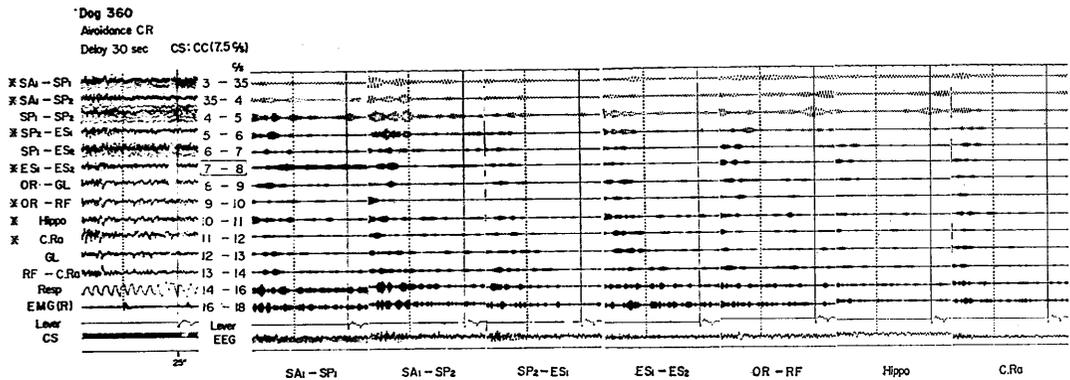


Fig. 7. Delayed CR and concomitant EEG change obtained from Dog 360. The latter was characterized by alteration of earlier inhibitory phase and latter excitatory phase during "CS" application. On this dog the "CS" (CC stimulation; 7.5 c/sec, 0.03 msec, 6 V) was applied 30 sec; the defensive EMG (CR₁) appeared about 20 sec and the lever-pressing (CR₂) about 25 sec after onset of the "CS". Explanation in text. CC=corpus callosum; OR=optic radiation; GL=corpus geniculatum laterale; RF=midbrain reticular formation; C. Ra=corona radiata.

化を示した部位は、CR₁の場合、F₁, F₂, T, Hippo および RF であるが、CR₂の場合もまた同様であり、先に報告²⁾した食餌性ペダル押し行動の場合と同じ領域に変化がみられた。

3. 陰性 CS 附加による CR の抑制

3 匹の動物では、強化ならびに実験的消去に続いて陽性 CS と陰性 CS との分化を形成した

後、陰性 CS を数秒間、陽性 CS に先行して与えることにより、陰性 CS がそれに続く陽性 CS におよぼす抑制性後効果をしらべた。分化の初期においては、動物は陰性 CS に対してもペダル押しを示し、電撃を回避しようとしたが、このような一過性の汎化現象の後、分化が形成された。次いで陰性 CS を陽性 CS の前に

先行的に附加した試行において、陽性 CS に対して CR が現われたが、後にこれらの CR は先行する陰性 CS によって完全に抑制された。このような操作により、回避性 CR₂ が確実に抑制されるには、先の論文²⁾³⁾における同一条件下の食餌性ペダル押し行動が抑制されるに必要

Table 2. Areas where frequency-analyzed EEGs were affected by internal inhibition (experimental extinction, delayed CR) before the defensive EMG of CR₁ in 3 experimental animals

Dog	CS	EEG affected area	Internal inhibition
1	VA	F1, F2	Exper. extinction
	VA	F1, F2, VPL	Delayed CR
	VPL	F1, F2	Exper. extinction
	VPL	F1, F2	Delayed CR
2	Cd	O, T, RF	Exper. extinction
	Hip	F1, F2	Exper. extinction
3	CC	F2, Hip	Delayed CR
	Hip	F1, F2, T, RF	Exper. extinction
	Hip	T, CC	Delayed CR
3	OR	F1, F2, T	Exper. extinction
	OR	F2, RF	Delayed CR
	RF	F2, Hip	Exper. extinction
	RF	F1, CRa, Hip	Delayed CR

な試行回数の約2倍の回数を要した。Fig. 8は単独呈示された陽性CSに対して正確にCRが出現した対照例で、脳波とその分析結果を示している。但しこの場合は前に示した例 (Fig. 4) と異なり、動物は分化を形成しているの、防禦性CR₁の時期が短くなり、すぐに回避性CR₂が現われたものである。それゆえ、F₁, F₂ および Hippo における脳波反応は、通常のペダル押

Table 3. Areas where frequency-analyzed EEGs were affected by the internal inhibition before the avoidance lever-pressing of CR₂

Dog	CS	EEG affected area	Internal inhibition
2	Cd	F1, O, CI	Exper. extinction
	CI	F1	Exper. extinction
	Hip	F2, O, RF	Exper. extinction
	RF	F2, O, CI, Hip	Exper. extinction
3	CC	F2	Exper. extinction
	CC	F2	Delayed CR
	Hip	T	Exper. extinction
	ORa	T, RF	Delayed CR
	RF	F1, F2, T, Hip	Delayed CR
	RF	F2	Exper. extinction

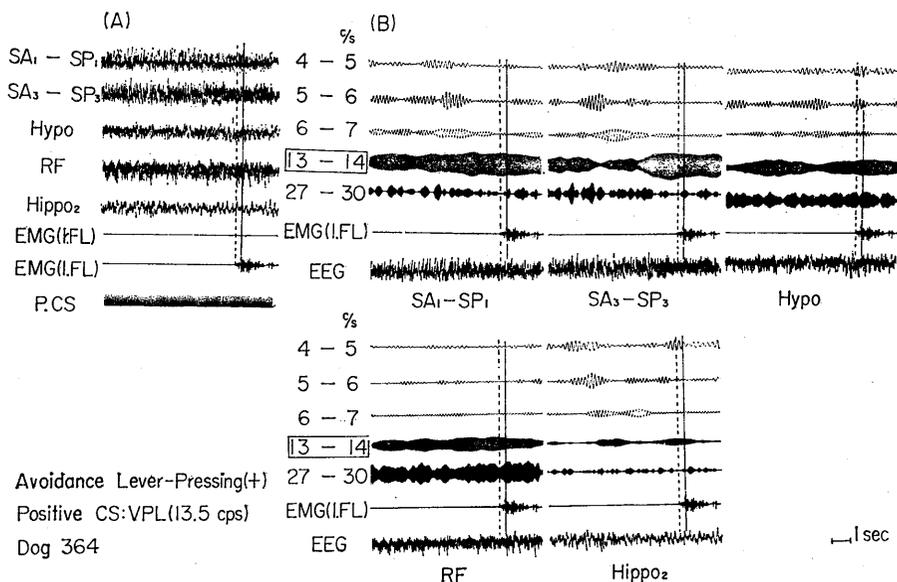


Fig. 8. Conditioned avoidance lever-pressing appeared in Dog 364. A control trial to positive CS (VPL stimulation; 13.5 c/sec, 0.05 msec, 5 V) before the inhibitory trial of Fig. 9. Hypo = hypothalamus. Note the decreasing and increasing phases about 3 sec prior to appearance of the CR in F₁ (SA₁-SP₁), F₂ (SA₃-SP₃), Hypo and Hippo₂-EEGs which is shown by fundamental and harmonic components.

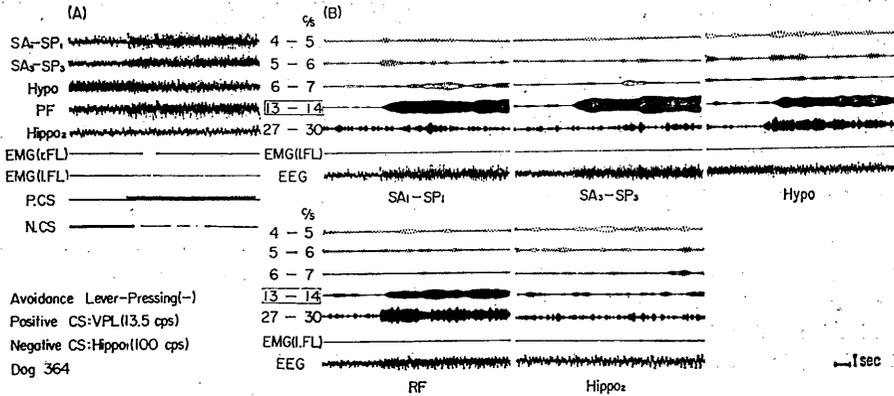


Fig. 9. A case of inhibitory after-effect of negative CS (Hippo₁ stimulation; 100 c/sec, 0.1 msec, 3 V) to positive CS (VPL stimulation; 13.5 c/sec, 0.05 msec, 5 V), Dog did not press the lever even to the positive CS when it was preceded by the negative one for 4 sec. Note that changes of EEG response to positive CS were similar to those in F₁ and F₂ but not in Hypo and Hippo as shown in Fig. 8, although the CR was completely suppressed.

し行動 (Fig. 4) 直前のそれに類似している。しかしながら, Fig. 8 に明らかなごとく, 基本波成分 (13.5 c/sec) は条件行動発現 (実線) の時点より約 2~3 秒以前に振幅減少が認められ, その後にこの成分の増加が現われてペダル押し行動が出現する。この現象 (2 相性変化) は, ことに F₂ (SA₃-SP₃), Hypo および Hippo でその傾向は明瞭であった。さらに, この傾向は同調波成分 (27 c/sec) についても F₂ および RF で認められた。しかしながら, Fig. 8 に示した試行の次の試行で, Fig. 8 と同一の陽性 CS の前に約 4 秒間の陰性 CS を附加するとき, Fig. 9 に示すごとく, 動物は陰性 CS (Hippo₁, 100 c/sec 刺激) に続く 10 秒間の陽性 CS (VPL, 13.5 c/sec 刺激) に対して左右の前肢 EMG 活動は共に静止状態を保ち, CR は完全に抑制された。この場合の脳波変化は CR が出現していないにもかかわらず, F₁ および F₂ において前述の対照例 (Fig. 8) のごとき基本波および同調波成分の 2 相性変化を示したことは注目される。さらに Fig. 9 の次の試行において, 陰性 CS を与えないで陽性 CS のみを呈示するとき, 動物は Fig. 8 の場合とまったく同様に左前肢で正確に回避性ペダル押しとそれに随伴する脳波変化を示した。

IV. 考 察

先の論文²⁾ で述べたごとく, 通常の脳波記録から条件行動の直前に認められる脳波変化を明らかにすることはきわめて困難であるから, 本研究においては前報告²⁾³⁾ と同様に, トレーサー法を用いて, ある特定のニューロン群を賦活し, このように増巾された条件下で, 条件反射性ペダル押し行動を生じる「運動電位」が現われることによる脳波変化を明らかにする目的で脳波の連続周波数分析を行なった。

しかも本実験では, 訓練操作の経過中に現われる随意性回避ペダル押し運動, 防禦条件反射ならびに条件反射性回避ペダル押し行動について上述の方法で脳波分析を試みた。これらの行動の出現に先行して, 皮質, 皮質下構造に発生する「運動電位」は刺激トレーサーに対する脳波反応の変化としていずれの場合にも認めることができた。このような行動発現直前の脳波反応のうちで, ことに皮質下構造 (Hippo, CI) の基本波成分 (13.5 c/sec) の変化の様相について, 随意行動と条件行動との間に明瞭な差異が認められたことは注目される。成績の項において述べたごとく, 随意性ペダル押しの場合, その運動出現に際して, 主として皮質脳波の変化

が先行する (Fig. 3) のに対して, CR 性ペダル押しの場合には, 皮質領域の変化のみならず, 皮質下脳波の著明な変化もまたほとんど同時に先行した (Fig. 4). 皮質下構造の重要性については, すでに Yoshii et al.⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾ および吉井⁽¹³⁾ は古典的および操作的条件反射の形成過程における脳幹網様賦活系, 視床-網様系および海馬系が参加することを証明した。

前論文²⁾ において述べたごとく, 皮質下構造のいろいろな部位に刺激トレーサーを与えた場合, その刺激に反応する誘発脳波に「運動電位」が加算されるならば, 末梢性に現われるペダル押し EMG に先行してその誘発反応の変化が認められるが, 種々のトレーサー刺激部位に関係なく, 「運動電位」は共通の部位 (どの部位に刺激を与えても, いつも同じ変化を示す部位) に生じることが考えられる。この部位がその行動の発現に必然的に関与する領域であると考えるならば, Table 1 に明らかなごとく, 回避性ペダル押し行動の発現には, 皮質知覚運動野 (F₁, F₂) のみならず, その他の皮質領域 (O, T) ならびに皮質下構造 (Hippo, RF, CI, CC, VPL, Pf, LP₂) を含む広汎な諸領域が関与することが示唆されている。

このことは先の論文²⁾ における食餌性ペダル押し行動についての成績と比較することにより一層明らかになる。Table 4 は食餌性 CR に先行して各トレーサー刺激部位に共通的に変化した部位を, Table 1 と同様にまとめたものである。食餌性ペダル押しの場合, 主として皮質領域 (ことに皮質知覚運動野 F₁, F₂) が関与している (Table 4) のに対し, ほとんど同じ動物を用い, しかも同じ電極を利用して実験した回避性ペダル押し行動の場合 (Table 1) には皮質領域のみならず, 皮質下構造 (ことに Hippo, RE) もまた参加することが注目される。

本実験の成績から, ただちに回避性ペダル押し行動に参加する神経回路を推測することはできないが, 少なくとも回避性 CR の出現には, 皮

Table 4. Areas where EEG responses changed commonly to different "CSs" prior to the alimentary lever-pressing in 7 experimental animals, 6 of which were used in this experiment of avoidance lever-pressing

Dog	CSs	Commonly changed areas
358	RF, VA, VPL	F1, F2, O, P, T
359	Cd, CI, Hippo, RF	F1, F2, O, T
360	CC, Hippo, OR, RF	F2, T1
361	Hippo, LP1, VA, VPL	F1, O, T
362	OR, Pf, VPL	F1, F2, Pf
363	GL, VPL	F1
364	CI, VPL	F1, F2

質および皮質下構造が広く参加し, とくに皮質下の Hippo および RF は回避性ペダル押し CR の発現に際して, きわめて重要な役割を果たしていると考えられる。

さらに, 回避行動に関してすでに発表された諸研究により, 本研究における成績は支持されるように思われる。Rich et al.⁽⁶⁾ は, 動物および条件刺激など実験条件の点で本実験のそれとは異なるが, あらかじめ光刺激に対する回避反応を訓練されたネズミは, 中隔-脳弓領, 海馬, 視床腹側部あるいは後外側視床下部のいずれかを両側性に損傷を与えると, その回避反応は保持されなかったことを報告した。Rich et al.⁽⁶⁾ によれば, 視覚性インパルスが皮質知覚領から視床後核を経て視床下部-中脳領に到達すると, ここから Eidelberg et al.⁽¹⁾ の視床路を通じて辺縁系 (海馬-中隔系) へ発射し, 次いで視床内背側核によって視床下部-中脳領が興奮性入力を受ける。これらの辺縁系からの入力によって回避反応の遂行に必要な“動機づけ”が形成されることが考えられている。このように, 視覚刺激あるいは聴覚刺激に対する回避性条件反応は上述の神経メカニズムによって実行されると推測されているが, これに関連して, 帯状束 (Peretz⁽⁵⁾), 中隔-海馬 (Moore et al.⁽⁴⁾), 扁桃核 (Robinson⁽⁷⁾), 視床内側部 (Thompson⁽⁸⁾, Thompson et al.⁽⁹⁾, Vanderwolf⁽¹⁰⁾) などの損傷によって, 回避反応が障害されたという報告もある。しかしながら, これらの諸研究においては条件刺激として感覚刺激を用いているのに対して, 本研究においては脳内電気刺激を用いて

おり、実験条件が異なる点を考慮しても、Rich et al.⁶⁾のいう神経機構は本実験において得られた結果の理解に十分役立つように思われる。それゆえ、CS を与えたいずれの皮質下部位にも共通な「運動電位性」変化を示した領域が回避性ペダル押しCRの形成ならびにその発現に関与する領域であると考えらるれば、回避性ペダル押し条件行動の実行には、広く皮質下構造(ことに Hippo, RF)が関与し、何らかの役割を果たしているであろう。このことは主として皮質知覚運動野(F₁, F₂)が関係すると考えられた食餌性ペダル押し行動の場合(Table 4)と著しく相違し、回避性CRの特徴として注目される。

古典的条件づけの内制止相において、脳幹網様賦活系および海馬同期系の活動が抑制されることが述べられている¹²⁾。本実験では、実験的消去の経過中にみられたCR出現例(Fig. 5)についての皮質知覚運動野の脳波変化と強化過程におけるCR出現例(Fig. 4)のそれは、共に同一CSに対するCR直前の脳波反応であるにもかかわらず、両者の間に相違が認められた。さらに、消去過程の末期におけるCRの消失例(Fig. 6)では、CR出現例(Fig. 4, Fig. 5)の脳波変化とは全く異なり、知覚運動野(F₁, F₂)および内包(CI)脳波の基本波成分は著しく減弱した。このことは消去制止の発生により、覚醒水準が低下し、もはやCSに対してペダル押し行動に関与する神経回路が賦活されなくなった結果、CSが与えられてもCRが出現しなくなったと考えられる。

延滞条件づけの場合、延滞CRの出現に先行する制止相と興奮相の二つの異なった脳波反応が認められたが(Fig. 7)、この現象は同一動物の皮質知覚運動野において同一のCSに対し、相反する脳内過程が発生したことを示唆する。すなわち、延滞CR出現におよそ数秒先行した制止相では、皮質および皮質下脳波に徐波が混合し、それに続く興奮相(点線で示したCR₁出現時点以後)では、脱同期脳波がみられた。周波数分析では、知覚運動野の基本波成分(7.5

c/sec)は制止相においては減弱し、興奮相では増強した。したがって、中枢的に基本波成分が抑制されている間、末梢的にはCR(EMG)が延滞されている。それゆえ、回避性ペダル押しに参加する条件反射性神経回路(その主要部位として知覚運動野がある)に制止過程が部分的かつ一過性に発生した結果、CRの発現が抑制され、その後続く興奮相においては、制止過程が排除されて延滞CRを出現したと考えられる。

陰性CSを先行的に附加させることによってその後与えた陽性CSに対するCRが完全に抑制された場合(Fig. 9)、そのときの皮質知覚運動野の脳波反応、ことにその基本波成分の変化は、回避性ペダル押しCR₂の出現が抑制されているにもかかわらず、CR₂が出現した対照例(Fig. 8)の脳波変化と類似した制止-興奮の2相は痕跡的に認められた。このことから、陰性CS附加によるCR₂の抑制は、陽性条件刺激を与えることにより、ペダル押しに関与する条件反射の神経回路が賦活されるにもかかわらず、先行の陰性条件刺激による制止過程がその回路のある部分(多分脳波記録されていない領域)に発生し、その制止効果とその後の陽性条件刺激の呈示中においても持続する結果、末梢性CRが抑制されたと考えられる。

V. 要 約

皮質および皮質下に慢性電極を植込んだイヌを用いて、左前肢でペダルを押せば左後肢への電撃を回避できることを学習させた後、脳内電気刺激(7.5あるいは13.5 c/sec)を“不関”トレーサーおよび“CS”トレーサーとして用い、随意性およびCR性ペダル押し行動に先行する脳波変化については連続周波数分析を行ない、これらのペダル押し行動ならびにそれに先行する防禦条件反射出現時の脳波変化を検査し、先に報告した同じ動物の食餌性ペダル押し行動の成績と比較した。

1. 学習の初期には、回避性ペダル押し行動に先行して、防禦条件反射(左後肢の緊張性筋

収縮)が現われたが、末期にはほとんど消失してペダル押しの位相性収縮となり、ペダル押し行動の消去の経過で再現した。

2. いずれの刺激部位の場合にも、トレーサー刺激に対する皮質、皮質下の誘発反応を含む脳波活動は常にペダル押しに先行して変化した。

3. 周波数分析の成績から、“不関”トレーサーのパラメーターを変更することなく、“CS”トレーサーに転換した場合、動物がペダル押し行動を示さなかった場合には常に左後肢へ電撃が与えられることにより、左前肢のペダル押し運動を学習した後は、皮質および皮質下構造が広汎に賦活されてペダル押し行動が現われることを示した。それゆえ、これらの諸構造が回避性ペダル押しに参加することが示唆された。

4. 食餌性ペダル押しに先行する脳波変化と回避性ペダル押し条件行動に先行するそれとを比較すると、前者の場合には、主として皮質知覚運動野 (F_1 , F_2) が関与した (Table 4) のに対し、後者の場合は皮質のみならず、広汎な脳構造に影響を与える皮質下構造 (Hippo, RF) が参加する (Table 1) ことが明らかにされた。

5. 実験的消去の場合、覚醒水準の低下を生じ、脳波の背景活動は徐波化し、ペダル押し発現に関与する神経回路が賦活されなくなった結果、CSを与えてもCRが出現しなくなったと考えられる成績をえた。

6. 延滞CRの場合、抑制相と興奮相が区別され、その抑制相においては、ペダル押しに参加する条件反射性神経回路に対し、制止過程が部分的かつ一過性に発生した結果、CRの延滞を生じたと考えられる成績をえた。

7. 陰性CSを陽性CSに先行させることによるCRの抑制は、陽性CSにより条件反射の神経回路が賦活されるにもかかわらず、先行的に呈示した陰性CSによる制止性後効果が陽性CSの呈示中も持続する結果であると考えられる成績をえた。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲の労を賜った恩師、吉井直三郎先生 (大阪大学名誉教授、現在兵庫医科大学第二生理学教室主任教授) に深甚なる感謝の意を捧げます。併せて、いろいろ御助力頂いた教室員諸氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Eidelberg, E., White, J. C. & Brasier, M. A. B. (1959) The hippocampal arousal pattern in rabbits. *Exp. Neurol.*, **1**, 483-490
- 2) 宮本健作 (1972) 食餌性ペダル押し行動の脳波的研究. *日本生理誌* **34**, 209-222
- 3) Miyamoto, K., Yoshii, N., Hori, Y., Shimokochi, M. & Hayase, S. (1969) Electroencephalographic studies on the lever-pressing behavior reinforced by food. *Med. J. Osaka Univ.*, **20**, 81-86
- 4) Moore, R. Y. (1964) Effects of some rhinencephalic lesions on retention of conditioned avoidance behavior in cats. *J. comp. physiol. Psychol.*, **57**, 65-71
- 5) Peretz, E. (1960) The effects of lesions on the anterior cingulate cortex on the behavior of the rat. *J. comp. physiol. Psychol.*, **53**, 540-548
- 6) Rich, I. & Thompson, R. (1965) Role of the hippocampo-septal system, thalamus and hypothalamus in avoidance conditioning. *J. comp. physiol. Psychol.*, **59**, 66-72
- 7) Robinson, E. (1963) Effects of amygdectomy on fear-motivated behavior in rats. *J. comp. physiol. Psychol.*, **56**, 814-820
- 8) Thompson, R. (1963) Thalamic structures critical for retention of an avoidance conditioned response in rats. *J. comp. physiol. Psychol.*, **56**, 261-267
- 9) Thompson, R., Rich, I. & Langer, S. K. (1964) Lesion studies on the functional significance of the posterior thalamomesencephalic tract. *J. comp. Neurol.*, **123**, 29-44
- 10) Vanderwolf, C. H. (1962) Medial thalamic functions in voluntary behavior. *Canad. J. Psychol.*, **16**, 318-330
- 11) Yoshii, N., Pruvot, P. & Gastaut, H. (1957) Electrographic activity of the mesencephalic reticular formation during conditioning in the cat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, **9**, 595-608
- 12) Yoshii, N., Matsumoto, J., Maeno, S., Hasegawa, Y., Yamaguchi, Y., Shimokochi, M., Hori, Y. & Yamasaki, H. (1958) Conditioned reflex and electroencephalography. *Med. J. Osaka Univ.*, **9**, 353-375
- 13) 吉井直三郎 (1963) 条件反射の神経機序. *阪大医誌* **15**, 227-241
- 14) Yoshii, N., Yamaguchi, Y. & Toyohara, I. (1963)

- Electroencephalographic study of conditioned reflex established by combination of two electrical stimulations to the brain stem (preparatory report). Proc. of XII Ann. Meeting of Japan EEG Soc., 116-117
- 15) Yoshii, N., Miyamoto, K. & Shimokochi, M. (1965) Electrophysiological studies on the conditioning of frequency specific waves. Med. J. Osaka Univ., **15**, 321-344
 - 16) Yoshii, N., Shimokochi, M., Miyamoto, K. & Ito, M. (1966) Studies on the neural basis of behavior by continuous frequency analysis of EEG. Progr. Brain Research, 21 A, Elsevier Publ. Co. Amsterdam, 217-250
 - 17) Yoshii, N., Miyamoto, K. & Hayase, S. (1969) On the neural mechanism of conditioned lever-pressing in the dog. Electroenceph. clin. Neurophysiol., **27**, 671-672
 - 18) Yoshii, N., Miyamoto, K. & Hayase, S. (1969) On the neural mechanism of decision making of lever-pressing. Med. J. Osaka Univ., **20**, 97-107
 - 19) 吉井直三郎, 宮本健作, 堀 泰雄, 早瀬三太郎 (1970) 食餌性および回避性ペダル押し行動における「運動電位」の比較. 日本生理誌 **32**, 433
 - 20) Yoshii, N., Miyamoto, K. & Hayase, S. (1971) The motor potential of conditioned lever-pressing for shock avoidance. Electroenceph. clin. Neurophysiol., **31**, 185
 - 21) 吉井直三郎, 宮本健作, 早瀬三太郎 (1971) 陰性条件刺激の「運動電位」("MP") に対する抑制効果. 日本生理誌 **33**, 500-501
 - 22) 吉井直三郎, 宮本健作, 早瀬三太郎 (1971) 行動決定の神経メカニズム. 神経研究の進歩 **15**, 7-25
 - 23) Yoshii, N., Miyamoto, K. & Adachi, A. (1973) Central and peripheral conditioned responses induced by intracerebral conditioned stimulus during sleep. Sleep; Physiology, Biochemistry, Psychology, Pharmacology, Clinical Implications. (1st Europ. Congr. Sleep Res., Basel 1972), 328-334 (Karger, Basel 1973).
 - 24) Yoshii, N. & Miyamoto, K. (1974) On the inhibitory mechanism of conditioned lever-pressing in dogs. Fundamental problems of electrophysiology of the brain, (Ed. M. N. Livanov), Acad. Sci. USSR, Moskow, 32-50 (in Russian)



Ca-binding protein in intestinal smooth muscle

Haruko MATSUMOTO, Hideyo YABU and Eisaku MIYAZAKI *

Department of Physiology, Sapporo Medical College, Sapporo, Japan

In the previous papers⁴⁾⁶⁾, we reported that pig intestinal myosin B showed a typical Ca-sensitivity which was diminished by the mild trypsin treatment. From the results, the existence of protein component which is similar to the native tropomyosin in intestinal myosin B was speculated. This communication demonstrates the apparent presence of a Ca-binding protein in intestinal smooth muscle.

All the preparative procedures were carried out in the presence of 0.5 mM dithiothreitol at 0~4°C. The pig's intestinal muscle layers from the jejunum and the ileum were rinsed in 0.9% NaCl and chopped with scissors into small pieces. The chopped muscle (100 g) was blended using a Waring blender in 2 volume of a 0.05 M KCl solution containing 40 mM Tris-maleate buffer (pH 6.8) and left to stand 1hr. The suspension was centrifuged at 15,000×g for 30 min, and the supernatant ("extract") was fractionated by (NH₄)₂SO₄. Four protein fractions were precipitated between 0~25%, 25~40%, 40~60% and 60~70% saturation of the salt, and a still large amount remained in supernatant at 70% saturation. The precipitates were collected by centrifugation (10,000×g, 15 min) and suspended in a small volume of water. These four suspensions and the supernatant at 70% saturation of the salt were then dialyzed for 24 hr against 0.3 mM NaHCO₃. The dialyzed solutions were centrifuged at 15,000×g for 30 min. The Ca-binding activity of each supernatant was estimated by equilibrium dialysis. The 40~60% fraction which was very viscous and showed the highest Ca-binding activity, was then chromatographed on Sephadex G-200 column.

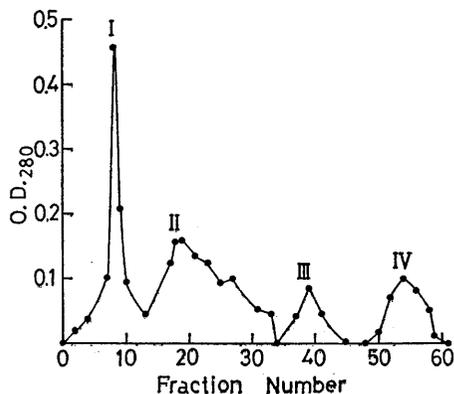


Fig. 1. Sephadex G-200 column chromatography of (NH₄)₂SO₄ 40~60% fraction. Experiment was carried out at 0~4°C. About 25 mg protein in 3 ml solution (0.2 M KCl, 0.3 mM NaHCO₃, 0.5 mM dithiothreitol and 1 mM NaN₃) was applied to a column of dimensions 3 cm × 125 cm equilibrated against the same solution and eluted at 13 ml/hour. One fraction was 15 ml.

As shown in Fig. 1, the chromatography resulted in four major peaks, I, II, III and IV. The Ca-binding of them was determined on the fraction No. 8, 19, 39, 54 (showed in Table 1). Among them, peak II (No. 19) which showed the highest Ca-binding activity was used as "crude Ca-binding protein preparation" in this article. Further, the purity of peak II was examined by disc electrophoresis¹⁾ on which pH in the running gel was adjust to pH 7.5⁷⁾. There were two bands which stand close to each other.

Protein concentration was determined by the biuret method, standardized by the micro-Kjeldahl determination of nitrogen content. Ca ion concentrations were controlled by the ratio of EGTA/CaEGTA³⁾, with a total EGTA concentration of 0.5 mM.

The yield and the Ca-binding activity of each fraction were shown in Table 1. The extraction of muscle residue with low ionic strength solution (0.05 M KCl, 0.5 mM dithio-

* 松本春子, 藪 英世, 宮崎英策: 札幌医科大学第二生理学教室

[Received for publication January 7, 1975]

Table 1. Purification of Ca-binding protein

Preparative stage	Yield (mg protein/100g muscle)	Bound Ca (nmoles/mg)	Relative bound Ca
1) Extract	3300	1.17	1.00
2) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ Fractionation			
0-25 %	1100	0.234	0.20
25-40 %	560	0.115	0.10
40-60 %	560	4.48	3.83
60-70 %	440	1.96	1.67
70 % Supernatant	500	0.013	0.011
3) Sephadex G-200 column chromatography of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 40-60 % fraction			
Peak I (No.8)	150	0	0
Peak II (No.19)	220	13.9 (4.43 at pCa 7.53)	11.8
Peak III (No.39)	70	0.79	0.67
Peak IV (No.54)	85	2.01	1.73

Protein-bound Ca was determined by equilibrium dialysis. 1~4 mg protein, dissolved in 1 ml buffer (0.5 mM dithiothreitol, 1 mM Na azide, pCa 5.21 and 40 mM Tris-maleate buffer at pH 6.8), was dialyzed for 48 hr in the cold against 4 volumes of the same buffer, to which 0.04 $\mu\text{C}/\text{ml}$ ^{45}Ca was added. The dialysis tubing was pretreated with EGTA solution and exhaustively washed with the deionized water. Bound Ca was determined from the difference between inside and outside radioactivity. Relative bound Ca was expressed as a ratio of bound Ca to that of extract.

threitol, 40 mM Tris-maleate buffer at pH 6.8) yielded approximately 3,300 mg protein for 100 g muscle. 15~20% of the protein was recovered in the $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fraction between 40~60% saturation. During this salting out step, a large quantity (about 50%) of protein precipitated between 0~25% and 25~40%, showing definitely lower Ca-binding activity than that of 40~60% fraction ($<1/20$). The supernatant at 70% saturation showed almost no Ca-binding. Relative bound Ca of 40~60% fraction was 3.83. After purification by Sephadex G-200, the Ca-binding activity was concentrated in peak II in which the relative bound Ca increased to 11.8. Bound Ca (13.9 nmoles/mg) of this peak was slightly lower than the value reported for skeletal native tropomyosin²⁾. Bound Ca (4.43 nmoles/mg) at pCa 7.53 was increased about three-fold by the elevation of the free Ca concentration from pCa 7.53 to pCa 5.21. In this point, this Ca-binding activity was similar to that of skeletal troponin²⁾. 30~40% of the protein of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 40~60% fraction was recovered

in the peak II, and the yield was 200~250 mg per 100 g muscle. Our yield was in the range obtained for skeletal native tropomyosin²⁾.

From these results, it is probable that this Ca-binding protein in peak II corresponds to troponin or native tropomyosin which shows the Ca-binding activity in skeletal muscle. As shown previously, this protein was still heterogenous according to examination by disc electrophoresis and required further purification.

References

- 1) Davis, B. J. (1964) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, Art. 2, 404-427
- 2) Ebashi, S. et al. (1968) *J. Biochem.*, **64**, 465-477
- 3) Imai, S. & Takeda, K. (1967) *Nature*, **213**, 1044-1045
- 4) Matsumoto, H. et al. (1974) *Jap. J. Physiol.*, **24**, 167-176
- 5) Mueller, H. (1966) *Biochem. Z.*, **345**, 300-321
- 6) Takase, H. (1973) *Sapporo Med. J.*, **42**, 228-235
- 7) Williams, D. E. & Reisfeld, R. A. (1964) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, Art. 2, 373-381

key words : Ca-binding protein, smooth muscle.

第 25 回 西 日 本 生 理 学 会

日 時：昭和49年10月5日(土), 6日(日)
場 所：長崎県南高来郡小浜町雲仙 青雲荘
当 番：長崎大学医学部第一生理, 第二生理, 原研生理

1. ガラス毛細管微小電極による細胞内電位の測定

後藤 司, 大場三栄, 富田忠雄 (福岡大, 医, 第一生理)

細胞内電位を測定する際に 3M-KCl を満たしたガラス微小電極の先端と種々の塩類溶液との間で液間電位差が発生する。Adrian (1956) は通常先端電位と呼ばれているこの液間電位差によって細胞内電位に測定上の誤差が生じると報告している。したがって今回先端電位に影響をおよぼす要素を検討してみた。試験溶液は人工海水 (465 mM NaCl 含) および NaCl と KCl の種々の濃度溶液を用いた。その結果、煮沸法によって KCl 溶液をつめた電極ではその電極抵抗に比例して人工海水水中との間で先端電位の増加がみられた。しかし、ガラス微小毛細管にガラス線維を挿入し室温で 3M-KCl を満たした電極ではその抵抗と先端電位との間に比例関係はみられず、先端電位は人工海水水中で 1mV 前後の小さな値を示した。ガラス線維を挿入した電極でも外液の NaCl および KCl の濃度に影響を受けるが、同じ濃度における NaCl および KCl 溶液中の先端電位の差はほぼ一定の小さな値であった。さらに煮沸法による電極では試験溶液の pH の違いによって免端電位に大きな相違がみられるが、ガラス線維を用いた電極では pH による影響は少なかった。以上よりガラス線維を用いた微小電極では電極抵抗と無関係に細胞内電位の測定上の誤差が少ないことが予測された。

2. カエル心房筋に対する浸透圧の効果

川越紀美江, 河田 博 (福岡大, 医, 第二生理)

食用カエル心室筋および心房筋の小標本にしょ糖隔絶通電法を用い、活動電位と収縮張力を同時記録しながら3倍の高張液の効果を観察し、比較検討を行なった。心室筋については、しょ糖高張液灌流時にまず速やかな活動電位 plateau 相の短縮が起り、それに伴って立上がり速度不変のまま収縮張力が減少するのに対し、NaCl 高張液灌

流時は活動電位の短縮は緩徐で、その間に収縮張力は立上がり速度の抑制を伴う2相性の減少経過をとる。一方心房筋については、活動電位の変化は心室筋同様であるが、しょ糖高張液・NaCl 高張液共に立上がり速度の抑制を伴った収縮張力の減少が観察される。しょ糖類似物質としてマンニット高張液の場合も、結果はしょ糖と同じであった。TEA 高張液では、一過性の plateau 相増大の後徐々に短縮が起り、単収縮は一旦増大した後、徐々に減少した。また高張液灌流時の静止張力に関しては、心室筋では特異な3相性の経過を示すが、心房筋では顕著でなかった。以上の結果より、心房および心室筋の間には本質的な差異は無いと思われるが、弾性要素および細胞内 Ca-store に量的な差があるものと推測される。

3. 周期性の検定に関する検討

古閑利英子, 佐々木 隆 (熊本大, 体質医研, 生理)

時系列をなす一連の観測値について、その変動が単なる誤差によるものなのか、あるいは律動的な要因が内在しているのかを客観的に判定する方法を検討した。

乱数よりなる時系列には元来周期性はないはずであるが、偶然周期性を示す場合がおりうる。そこでこの確率をあきらかにすることによって有意性検定の資料をうることができる。指標としては、与えられたサンプル時系列を Halberg の Cosinor 法によって波の成分と誤差の成分とに分離して、両者の相互関係に立脚して、TAE, VRT, FWE および CHI の4種を比較検討した。

TAE = [振幅/誤差の標準偏差] は測定間隔が等間隔のときは $\sqrt{F_{N-3}^2(\text{Pr})/4/N}$ という関係があるが、間隔が等間隔でない場合には規則性が消滅するので、指標としては不適格である。

VRT = [波の成分の分散/原分散] = $1 - (\text{Pr})^{2/N-3}$ なる関係があるが、Nが小さいと分解能が悪くなるのが欠点である。

FWE = [波の成分の分散/誤差分散] = $F_{N-3}^2(\text{Pr})$

なる関係があり利用可能である。

$CHI = [-(N-3) \ln(\text{誤差分散}/\text{原分散})] - 2 \times \ln(\text{Pr})$ なる関係があり、観測回数 N にも無関係なことが特徴で、また確率の直接計算も容易であるので、これが最も優れた指標である。

4. フェノチアジン系薬物による心拍数依存性心室内興奮伝導遅延について

有田 真, 永元康夫, 厚川哲典 (九大, 医, 第二生理)

Phenothiazine 系向精神薬投与中にみられる心電図異常のひとつに、QRS 時間の延長がある。この異常がしばしば頻脈に伴ってみられることから、心拍数に依存する心室内興奮伝導障害の可能性を考え検討を加えた。雑種イヌを人工呼吸下に開胸し、心電図 (第 2 誘導)、血圧、吸引電極左室活動電位、左房表面心電図を同時記録し、右房 pacing と迷走神経刺激の組合せにより、頻脈と徐脈を作り、各心拍における QRS 幅を chlorpromazine (CP) 1, 5, 20 mg/kg 静注前後で比較した。CP 5 および 20 mg/kg により QRS は延長するが、延長の大きさは心拍数にほぼ比例した。すなわち CP 20 mg/kg 投与のとき基本心拍 (約 130/分) で平均 51.0 ± 1.2 msec のものが、最頻心拍 (約 260/分) では 60.8 ± 1.5 msec となり、約 20% の心拍依存性延長を示した。いっぽう、CP 非投与群の QRS は平均 44.8 ± 0.9 msec で心拍数によらず一定であった。また心房間伝導時間も心拍数に依存して延長した。しかるに、摘出したイヌ心室乳頭筋から得られる細胞内活動電位の最大立上がり速度 $(dv/dt)_{\max}$ は、CP または thioridazine ($3 \mu\text{g/ml}$) 投与により減少するが、その減少の大きさは著しく刺激頻度 (0.1~4 Hz) に依存した。以上のことから、QRS 幅の心拍依存性延長は $(dv/dt)_{\max}$ の心拍依存性減少と関係があると考えられる。

5. マウス妊娠子宮におよぼすプロスタグランディン E_2 (PGE₂) とオキシトシン (Ox.) の作用の違いについて

鈴木 光, 栗山 照 (九大, 歯, 生理)

PGE₂ および Ox. は子宮筋に興奮作用を示すことが知られている。マウス妊娠子宮筋を用いて両者の興奮作用機序の違いについて微小電極法でし

らべたような結果を得た。

1. PGE₂ は妊娠中期から効果がみられるが Ox. は末期にのみ有効である。両者とも妊娠が進むにつれて効きやすくなる。

2. PGE₂ は輪走筋に比べ縦走筋により大きな興奮作用を示す。Ox. は両筋走に同等の効果を示す。

3. PGE₂ は desensitization をおこし易いが Ox. はおこしにくく、PGE₂ 依存下で desensitization をおこしたときにさらに Ox. を加えると再び脱分極がおこる。低濃度では PGE₂ と Ox. は相乗効果を示す。

4. PGE₂ で発生させた脱分極性スパイク放電抑制時に通電により膜を再分極させると振巾の大きい連続したスパイク放電を、Ox. の場合には緩電位を伴った burst 放電を発生する。

5. Ca-free 液中で PGE₂ は一過性の脱分極をひきおこすが Ox. は継続した脱分極を示す。

6. 以上の結果から、PGE₂ も Ox. も結合-Ca の遊離作用を示すが、両者の受容器は異なることがわかった。なお両者の作用機序について種々考察した。

6. Nucleus reticularis tegmenti pontis (NRTP) 細胞の微小電極による分析

清原寿一 (熊本大, 医, 第二生理)

大脳皮質運動領、および小脳皮質の双方に密接な関係をもつ橋核の一つ、nucleus reticularis tegmenti pontis (NRTP) について、ネコを使って、その神経細胞の電気生理学的特性を、小脳との関係に注目して調べた。

NRTP への入力の一つは、小脳から結合腕を介してくるものであり、出力は橋腕を経て小脳皮質へ、またその側枝により小脳核へと送られる。橋腕刺激で、逆行性に activate された spike は、その rising phase に IS-SD の折れ目がみられた。NRTP ニューロンの伝導速度は 10~50 m/秒で、細胞膜抵抗は 2~10 Mohm であった。これを NRTP と同じ前小脳核の一つである外側網様核のそれと比較すると、NRTP 細胞は少し早い伝導速度と、低い膜抵抗値を示した。

小脳中位核を電気刺激すると、NRTP 細胞は逆行性に activate され、約 1.2 ミリ秒の潜伏をもった単シナプス性の EPSP が記録された。この

EPSP のいくつかは、脱分極性の電流を記録電極より通流すると、その電位が逆転した。これは中位核ニューロンの興奮性のシナプスが、NRTP細胞の soma か、あるいはその近くに終っていることを示唆する。

7. 老人の正常体温

内村裕嗣, 村上 恵 (山口大, 医, 第二生理)

老人の正常体温を知るために、山口県内の老人973名について腋窩温を測定した。腋窩温の測定には平型体温計を用い、30分間検温を行った。老人の腋窩温は35ないし37.8°Cの間に分布し、体温別ヒストグラムは低い体温側に尾をひいた近似正規分布を呈する。その平均値は表1の通りであるが、正常成人値(平均値36.89°C, $\sigma=0.342^\circ\text{C}$)に比し0.3°C低く、ばらつきも成人値に比し大である。m \pm 2 σ を正常範囲と考えてその上限値ならびに下限値を算出した。

表1

	平均値	上限値	下限値
男性(°C)	36.54	36.95	36.14
女性(°C)	36.65	37.10	36.19
合計(°C)	36.60	37.03	36.17

5才毎の平均値ならびにその標準偏差を算出し、agingに伴う消長を検すると、男性は50才台あるいはそれ以前より逐次老人型の低い体温へ移行し始め、65才以降で完了するが、女性では老人型への移行がやや遅れ70才以降で完了する。すなわち腋窩温の消長から眺めるとagingは女性よりも男性において早期に始まるものと解される。なお同時に測定した血圧は体温との間に何らの相関も認められず、高血圧発症に関連する中枢性モノアミンニューロンは、体温調節機構に関連しているそれとは異なるものと思われる。

8. サルノコシカケの抗腫瘍性と生理学的実験に関する研究 第2報 サルノコシカケ抽出物の2, 3の組織呼吸に対する影響

大西瑞男, 山神和比己, 松本澄久 (鹿児島大, 医, 第一生理)

サルノコシカケ抽出物がEhrlich腹水癌に対してin vivoでは腹水型に抑制効果をもたないが、皮下型では抑制効果があることを知った。そこでin vitroで腹水型と皮下型に対するサルノコシカ

ケ抽出物の影響を検討した結果、組織呼吸については腹水型が濃度によっては呼吸促進するのに対して皮下型では呼吸抑制の傾向を示している。これはin vivoの結果がそのままin vitroの結果に表われているように思われた。そこで呼吸基質としてglucoseを加えた場合組織呼吸が自家呼吸に対してかわらないかまたは小さくなる肝臓および脾臓の正常組織と凍結による膜破壊組織を使用してサルノコシカケ抽出物の腹水癌におよぼす影響を比較検討した。その結果有傷の細胞膜を有する組織に対してサルノコシカケ抽出物は無傷の正常組織に対する作用と逆な作用を示すことが解った。このことはサルノコシカケ抽出物細胞表面膜の糖質構造と大いに関係があるとみられるが、演者らの用いるワールブルグ装置では、時間的にみて、2時間という短時間であるにもかかわらず効果がみられることに、この実験の意義があると思われる。

9. 頤舌骨筋の機械的性質

橋本清美, 山本佳津枝, 副田博之 (福岡歯大, 生理)

食用ガエルの摘出筋を用い、顎運動に関与する頤舌骨筋の機械的性質を、他の筋の性質と比較検討し、次の結果を得た。

1. 負荷の増大に伴いよく伸展し、伸展にしたがって、収縮高は小さくなる。
2. 単収縮高に対する20 Hz時の強縮高は3.58と他に比べて、著しく大きな値を示した。
3. 強縮を起こす融合刺激頻度は、他の筋に比べて、やや大きい傾向を示した。
4. 高頻度の頻回刺激に対し、他の筋に存在する初発生の律動性収縮像はみられない。
5. 2 Hz刺激によるエルゴグラムの収縮性停止にいたる時間は、わずかに、他の筋より長い値を得た。
6. エルゴグラムにおいて、筋運動停止後、低頻度刺激に変えると、単収縮高が等張性では漸減し、等尺性では不変であった。
7. 57 mM K⁺による拘縮像は、持続性の像であり、緊張性成分の多い筋であることを示した。
8. 上記の結果より、頤舌骨筋の機械的特殊性を考察した。

10. エゼリンのモルモット交感神経節に対する作用

米村健一, 莊明勝, 田中育郎 (熊本大, 医, 第一生理)

硫酸エゼリンのモルモット上頸神経節に対する作用を広い濃度範囲 ($2 \times 10^{-3} \text{ M} \sim 16^{-6} \text{ M}$) にわたり微小電極法で検討した。

1. $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 以上の濃度で, $10 \sim 16 \text{ mV}$ の脱分極作用を示す例があるが, この作用には膜抵抗の減少を伴う例と, 逆に増加を伴う例とがある。

2. 高濃度 (10^{-3} M 以上) では, 全例 (5例) において投与後 6~12分で節内シナプス伝達の阻止作用を示す。

3. 広い濃度範囲において, fast EPSP の half-decay time は 1.2~2.2倍に延長され, また, slow EPSP も著明に増大, 延長される。

4. $2 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-5} \text{ M}$ の濃度では, シナプス伝達の促進作用を示す例が多く, 節前線維の単発刺激に対して節細胞に 2~4 個の活動電位を発生させる。また, ときには 2~3 分間連続する活動電位の発生もみる。

5. 低濃度 ($10^{-5} \sim 10^{-6} \text{ M}$) では, slow IPSP を著明に増大する。

6. 外部より投与したアセチルコリンによる脱分極の程度は, エゼリン ($5 \times 10^{-5} \text{ M}$) により 10~15倍増大されるが, 除神経した節細胞では逆に約 10倍抑制される。その理由についてはなお検討中である。

11. モルモットおよびマウス輪精管の電気的性質について

富田忠雄 (福岡大, 医, 第一生理)

モルモットの輪精管平滑筋は大きい外部電極による通電に対してケーブル様の電気的性質を示したが, マウスの輪精管平滑筋では同じ実験条件下でケーブル様の性質を示す電気的応答を記録することができなかった。微小電極を用いた細胞内通電に対しては両者ともほぼ同じような反応を示した。すなわち入力抵抗が低くて時定数の短い電気緊張電位を発生する細胞では活動電位を起し得なかったが, 入力抵抗が高く, 時定数が長い細胞では活動電位を発生させることができた。これらの違いは多分細胞間の電気的結合の程度の差によ

るものであって, モルモットとマウスとではこの点に関しては本質的な差はないものと考えられる。しかし細胞間の電気的結合は主に組織の横方向に存在し, 縦方向には非常に短い範囲に限局していると推定される。

神経刺激によって接合部電位を発生させると, モルモットではどの細胞でも活動電位を発生させることができた。ところがマウスでは細胞内通電で興奮する細胞では 10 mV 以下の小さな, 経過の速い接合部電位によって容易に活動電位を発生させえたが, 細胞内通電によって興奮しない細胞では $30 \sim 40 \text{ mV}$ の大きい, ゆるやかな接合部電位が生じたにもかかわらず, 活動電位の発生はみられなかった。これらの差は神経支配の密度の違いと関係している可能性が考えられる。

12. S-6 と膀胱片収縮曲線 (1)

高須ゆきよ, 野田憲一 (福岡歯大, 生理)

このたび, 杏林化学研究所より開発された副交感神経興奮剤である 1-methyl-5-chlorindoline-methylbromide (略称 S-6) の作用機序について, 食用ガエルの摘出膀胱片を用いて, その isotonic な動きについて, Magnus 法により acetylcholine と比較しながら実験を行なった。尚, 薬剤はすべて漿膜側から作用させた。

1. S-6 は ACh に比べ, 一過性の拘縮はあまり強く示さないが, それに続く律動的収縮の増強作用を非常に強く示す。

2. S-6 の作用は, ACh と同じように 10^{-5} g/ml の nicotine や C_6 で前処置してもその作用を現わし, 10^{-6} g/ml の atropine では完全に拮抗されることから, ムスカリン作用を示すものである。このとき, 自発運動は, atropine に影響を受けない。

3. S-6 の示すムスカリン作用は, D-600 Ringer 中のような Ca 欠の状態でも作用を現わすことから, ACh 遊離を介するものでもなく, また, S-6 前処置後の ACh の作用を増強しないことから, ChE 阻害による作用でもない。すなわち, S-6 の興奮作用は受容器への直接作用によるものである。

4. S-6 の示す反復的収縮は, 自発運動に似て Ca^{2+} に対して sensitive である。また, 自発運動も S-6 の作用も TTX (10^{-6} g/ml) で抑制され

ない。

13. 水晶体膜のイオン透過性

田浦洋子, 赤池紀扶 (熊本大, 医, 第二生理)

水晶体が膜電位を発生することは今迄にいくつか報告されているが, 水晶体膜の性質がいかなるものであるかはほとんど知られていない。そこで我々は外液中の陽・陰イオンを置換し, その際の膜電位の変化を指標として水晶体膜のイオン透過性について考察した。実験にはウシガエルの摘出水晶体を使用し, 標本の固定装置を工夫することにより, 水晶体前・後囊側を同じ液または異なった液で浸漬できるようにした。よって実験に応じて膜電位も前・後囊側より測定可能である。

結果: ウシガエル水晶体の膜電位 (これは水晶体内部の単一 lens fibre の細胞内膜電位を意味する) は K 電極としてふるまった。すなわち低濃度の K で過分極し, 高濃度の K で脱分極した。また水晶体膜は程度の差あれ, Na や Cl に対しても膜透過性を示した。K 類似の陽イオンに対しては $K > Rb > Cs > NH_4$ の順序で透過性を示し, 陰イオンに対しては $SCN > N_3 > NO_3 > Br > Cl = I > acetate > propionate$ であった。また水晶体の陽イオン, pH に対する感受性は前囊よりも後囊側の方が高かった。

14. 上行性網様体賦活系における α -adrenergic mechanism について

太田雅博 (九大, 医, 第一生理)

成熟ラットの中脳網様体 (MRF) 刺激により錐体路反応の D-wave は変化しないが, I-waves は初めに促進, 遅れて抑制される。抑制作用は α -blockers の静注で block され, 促進作用は phentolamine では 5 例中 4 例 ($P < 0.02$), phenoxybenzamine では 3 例中 1 例のみ block され, その一部については昨年報告した。

α -blockers を大脳皮質表面に作用させると, 抑制作用は phentolamine, phenoxybenzamine 共に, ほとんど完全に block する, が促進作用は全く変化しなかった。MAO-阻害剤の iproniazid の腹腔内注入により, 抑制作用は有意に増強され ($P < 0.05$), 促進作用は少し増強されるが, 統計学的に有意ではなかった。Iproniazid により増強された抑制作用も phentolamine の皮質投与により

block された。

以上の結果から, MRF の大脳皮質に対する抑制作用に α -adrenergic mechanism が関与し, その receptor site が大脳皮質に存在することが結論できる。促進作用における adrenergic mechanism の関与については明らかにできなかったが, 少なくとも大脳皮質にはなく, あるとすれば皮質下, 特に脳幹網様体の一部ではないかと考えられる。

15. 下位脳幹, 特に raphe region における温度受容細胞について

村上 恵, 坂田義行 (山口大, 医, 第二生理)

中脳に thermod を植え込み, 局所的に加温冷却を行っても余り著明な体温調節反応は発現しない。そこで中脳における, 特に raphe region の温度受容細胞の活動状況についての検討を行なった。ウサギを使用しウレタン麻醉下に lateral 2.5 mm に thermod を植え込み, AP 12 前後を中心に検索した。

1. Raphe 領域には外側部と同様に温度受容細胞が存在するが, 26 個の温度受容細胞中 20 個が温細胞で冷細胞は 6 個であった。その response curve を検すると 22 個が線形であって, 非線形なものは 4 個に過ぎない。

2. 一定の温度で中脳を clamp しておき, 皮膚面に種々の温度刺激を行なうと, 21 個の細胞のうち 17 個の細胞ではその活動が変化した。その反応様式は温細胞では皮膚温下降により活性が上昇し, 冷細胞では皮膚温下降により活動性低下を示すものが多かった。

3. これら温度受容細胞の存在部位が縫線核周辺に密集しているため, methysergide の静脈内投与を行なうと, 5-HT ニューロンか否かの同定を行なった。5 個の温度受容細胞について検したが, いずれも本薬物の投与によって何らの影響を認めることはできず, raphe region の温度受容細胞は縫線核の 5-HT ニューロンとは別個のものと解される。

16. 中脳温度変化に対する縫線核ニューロンの反応

堀 哲郎, 原田温子 (熊本大, 体質医学研, 生理)

視床下部のセロトニン (5-HT) はノルアドレナリンとともに体温調節中枢機構に関与していることが想像されている。視床下部ではこれらのアミンは神経終末に存在し、細胞体は下部脳幹にある。ラットを高温曝露すると視床下部の 5-HT 代謝回転率が増加するので、5-HT 含有ニューロンの活動を駆動する信号の一つは温度ではないかと想像される。そこでラットの中脳内側および背側縫線核ニューロンからユニット活動を記録し、中脳温 (Tmb) の効果を調べた。ユニットが縫線核ニューロンから記録されたものであるか否かは、規則的かつ低頻度 (1~3 Hz) の特異な放電パターンと電極先端位置の組織学的検索との二つにより判定した。温度に対する反応を調べた中脳縫線核ユニット 20 個のうち、8 個は温ユニット (Tmb 上昇により放電頻度が増加する)、2 個は冷ユニット (Tmb 下降により放電頻度増加)、残りの 10 個は温度に反応しなかった。これらの結果から、縫線核ニューロンのあるものは温度により駆動されることが結論される。また縫線核ユニットの放電頻度と脳内 5-HT 回転率とは正の相関があることが知られているので、温ユニットが多数記録できたことは高温曝露による 5-HT 回転率の増大という事実とよく対応する。

17. 実験的組織呼吸におよぼす酸素分圧の影響

松本保久, 西村茂人 (鹿児島大, 医, 第一生理)
 気体環境の酸素分圧が組織浮游液の酸素分圧を示すヘンリーの法則を根拠として、今回は空気 (対照) よりも酸素分圧の低い場合においてウサギの各種の臓器について実験した。えられた成績は以下のものであった。

1. 含糖浮游液では、各臓器の組織切片の酸素消費は酸素分圧の低下につれて大体低下した。ただし、角膜のみは酸素分圧の低下につれてむしろ促進の傾向を示した。

2. 呼吸に伴なうブドウ糖の消費は大脳皮質および脾臓では酸素分圧の低下につれて著しく増加した。しかるに顎下腺では逆の傾向を示した。網膜では酸素分圧の低下とはほとんど無関係であった。

3. 呼吸に伴なう乳酸の発生量は、大脳皮質、脾臓、横隔膜、肺臓では酸素分圧の低下につれてかなり大であった。

4. 呼吸に伴なう浮游液の水素イオン濃度の変化は大脳皮質、脾臓および肺臓では酸素分圧の低下につれて、かなり大であった。顎下腺では反対に小となった。

5. 呼吸に伴なう Q_{O_2} あたりのブドウ糖の消費量は角膜と心筋では酸素分圧の低下につれて小さくなるが、他の臓器の組織切片では大体大きくなった。

6. 呼吸に伴なう Q_{O_2} あたりの乳酸の発生量は角膜を除いて、酸素分圧の低下につれて大きくなった。

18. 妊娠ラット子宮の縦走筋および輪走筋の生理学的比較ならびに両者の相互関係

長 琢朗, 片瀬 高 (九大, 歯, 生理)

縦走筋と輪走筋それぞれの筋細胞長軸方向に筋条片を作製し、これらの機械的電気的性質をしらべた。1) 伸展に応じて収縮の大きさや頻度が変化するが、頻度増大効果は輪走筋においてより著明であった。2) 縦走筋ではスパイク活動が、輪走筋では徐電位が著明であった。但し妊娠末期のものでは輪走筋にもスパイク電位が見られた。

両筋層の活動の相互関係について次のような実験結果がえられた。1) 長さ約 2 cm, 容積約 0.3 ml の子宮囊をつくり、内圧変化と縦方向の収縮の同時描記を行うと、両者の自発活動は完全に同期しており、これはテトロドトキシン投与によって影響をうけなかった。2) 縦走筋に脱分極性の電気刺激を与えると輪走筋の電気活動が促進された。また、刺激、記録条件を逆にした場合でも同様な現象が見られた。以上のことは非動化した組織においても同様であり、両筋層間の興奮伝播は機械的干渉によるものではなく、また神経によって媒介されるものではないことを示している。おそらく両筋層の細胞間には何らかの形で電気的連絡があると考えられる。

19. イヌとカエル心筋の張力要素——比較生理学的研究

後藤昌義, 安部良治*, 大場三栄** (九大, 医, 生理・九大, 医, 短大, 生理*・福岡大, 医, 生理**)

二重隔絶膜電位固定法により、矩形波脱分極中の張力要素について、カエル心房筋とイヌ乳頭筋

の特性を比較検討した。カエル心房筋の場合には脱分極中の張力要素は、1) Mn^{++} また La^{+++} で除去できる Ca の内向き電流 I_{Ca} に直接依存する要素と、2) これらで除去できないが、外液の Na と Ca に影響をうける張力要素が認められた。またこの第2の張力要素は $10\sim 50$ mM の大量のカフェインでむしろ増強されるので、筋小胞体 SR によるものでなく、おそらく Reuter & Seitz (1968) により提唱された $Na-Ca$ exchange diffusion によるものと推測される。

他方、イヌ乳頭筋ではカエル心房筋とことなり反復矩形波脱分極による build up の現象が顕著であるが、この build up の現象はカフェイン 10 mM で完全に消失し、カエル心房筋の性質に類似してくる。ゆえにこの build up の現象はイヌ心筋に豊富な SR によるものといえる。他方、steady state における脱分極中の張力要素もその第1の要素がカフェイン 10 mM で完全に消失し、第2の張力要素は却って増強されることから、イヌ心筋の初期収縮は SR からの Ca -release、つづく弛緩は SR による Ca -uptake によるもので、第2の緊張性収縮はカエルの第2の要素と同様に $Na-Ca$ exchange によるものと推測された。

20. モルモット胃平滑筋の slow wave 発生頻

度について

坂本康二, 大場三栄, 富田忠雄 (福岡大, 医, 第一生理)

モルモット胃平滑筋の slow wave の発生頻度は通電による膜電位の変化によっては大きな影響を受けないが、温度を低下させるとその頻度が著明に減少する。この場合の Q_{10} は $27\sim 37^{\circ}C$ の範囲でおよそ3である。これらの結果は slow wave の発生機序に代謝機構が大きく関与していることを示唆している。しかし、slow wave の発生頻度は代謝阻害剤 (1 mM NaCN), Na ポンプの阻害剤 (5×10^{-6} g/ml ウワバイン), ミトコンドリアの Ca 取り込みの抑制剤 (10^{-6} g/ml antimycin) などによってあまり変化しない。

縦走筋および輪走筋において Na イオンを Tris イオンで置換した場合 slow wave の発生頻度は大して変化しないが、蔗糖で置換すると頻度の減少がみられる。また Cl イオンを透過性の低い isethionate イオンで置換すると頻度は 4.3 から $1.8/min$ に減少する。しかし透過性の高い NO_3 イオンの置換では著明な変化は観察されない。これらの結果からモルモット胃平滑筋の slow wave の発生機序には膜を透過できる陰イオンが重要な役割を果たしているものと推察されるが、その関与の機構については現在のところ不明である。

〔会報〕

日本生理学会昭和49年度第2回常任幹事会

日 時：昭和49年12月6日 午後1時～6時

会 場：学士会本郷分館3号会議室

出席者：(敬称略)

宮崎英策, 田崎京二, 勝木保次, 内菌耕二, 塚田裕三, 伊藤正男, 真島英信, 名取礼二, 島津 浩, 古河太郎, 市岡正道, 本間三郎, 大村 裕, 御手洗玄洋, 井上 章, 岩間吉也, 岡本彰祐, 銭場武彦, 佐藤昌康, 間田直幹

議 長：内菌耕二(庶務幹事)

報 告

1. 庶務報告：内菌庶務幹事より、会員数および各選挙経過が報告された。

本林基金につき、事務局員を滞同して御遺族に謝意を表した。産業医科大学より非公式に生理学教授推薦の依頼があったので、その手続きをとりたい旨発言があった。

2. 会計報告：昭和49年11月末現在の会計状態につき伊藤会計幹事より説明があった。きびしい経済状況のもと、会費値上げが検討された。

3. 編集報告：日本生理学雑誌(和文)の発行および編集の現状について塚田編集幹事より報告があった。また、投稿規定を8月1日より印刷に要する費用はすべて自己負担とすることが編集委員会できめられ、それに関する事後報告がなされた。

4. J. J. P. 編集会計報告：J. J. P. の発刊および原稿の現状を勝木編集委員長より報告があった。出版社より値上げ案が提出されている旨報告があった。

5. 昭和50年度文部省科学研究費審査委員候補者選挙結果

第一段審査委員候補者

生理学一般(候補者2名)

銭場武彦, 井上 章

神経・筋肉生理学(候補者3名)

古河太郎, 島津 浩, 高木貞敬

環境生理学(候補者2名)

緒方維弘, 吉村寿人

第二段審査委員候補者(候補者2名)

内菌耕二, 佐藤昌康

当選した上記の方々を日本学術会議へ9月28日推

薦した。

6. 北海道常任幹事改選結果：北大藤森教授退官に伴い補欠選挙の結果札幌医科大学、宮崎英策氏が当選された旨報告された(任期は昭和50年度改選時迄)。

7. J. J. P. 編集委員改選結果、下記の通り決定した。

感覚生理 勝木保次

心臓・脈管生理 入沢 宏

環境生理 吉村寿人

興奮性膜生理 渡辺 昭

8. 評議員所属地区登録票について報告：真島幹事より登録の結果について説明がされた。

9. IUPS 総会報告：勝木幹事より26回 IUPS (New Delhi) の general assembly における討議内容につき報告があり、参加者のビザ発行に関しイスラエル、台湾等との間に軋轢があった旨報告された。なお次回はフランス、次々回はハンガリーにおいて開催されることが決定した。

10. 研究費配分結果報告：名取幹事より文部省科研費配分に関する報告がなされた。

11. 昭和50年第52回日本生理学会大会の進行状態について：大会準備は順調に行なわれている旨当番幹事より電話連絡のあったことが報告された。大会前日には三つの若手シンポジウムが開催される予定である、との報告が庶務幹事によりなされた。

12. その他：本会より推薦の日本学術会議当選者の紹介がなされた。当選者の氏名は下記の通り
名取礼二, 岡 芳包, 高木健太郎, 藤森開一

議 題

1. 日誌投稿規定の一部改訂の件：報告3で述べた通り、投稿規定を一部改正し、印刷に要する費用はすべて自己負担とすることが承認された。広告費値上については編集幹事に一任することとなった。

2. 常任幹事連続再選の制限について：岩間幹事より提案理由の説明があり討議された。この件につき即座に結論を出すことは困難なので、引続き検討することが諒承された。

3. 生理学用語委員会再開について：岩間幹事より上記の案が提案され、生理学用語集を利用するかが多いので再度委員会を再開してはとの発言があり、先に委員であった方を庶務幹事が一度招集することになった。

4. 教育委員会について：中間教育委員会委員長より、本林基金の使用に関し提案がなされ、諒承された。早急にアンケートをとり、それらを検討の上実施することに決定した。

5. 昭和51年（第53回）大会候補地の件：庶務幹事より第53回大会を東北大学で行うことにつき、関係者の同意が得られつつある旨報告され、

それに沿った線で準備を進めることが承認された。

6. 各種奨学金申請について：庶務幹事より、只今日産学術研究助成要望が参っており、勝木、名取、内藪の三幹事により選考し、推薦することとなった。

7. その他

a. 真島幹事より、報告8で述べた評議員所属地区登録に基づき常任幹事の地区別定員数に関する案が提出され、票決の結果、北海道2名、東北2名、関東4名、東京8名、中部3名、近畿4名、中国・四国2名、九州2名の案が決定した。

b. J. J. P. の値上の件：勝木幹事より12ページまでを学会負担とし、超過1ページにつき2,000円、総ページ720頁とする案が提案承認された。なお、J. J. P. の購読料値上は6,000円とすることが認められた。

c. 常任幹事代理について：山田幹事より、地区2名の常任幹事が欠席の場合、代理をみとめるか、否か、意見が述べられたが、認めないことと決定した。

〔編集後記〕

ひたひたと押し寄せる物価の波は、それに依って利を上げて居る少数のもの以外のまともな事業、研究、教育の面で全くお手上げの状態であります。日本生理学会もその例外ではありません。嘗ては段々と戦争に巻き込まれて行く日本でもそれを経験し、今は平和であるにもかかわらず stagflation というマルクスもケインズも予想できない恐しい世の中になって来ました。

われわれはここでどうしたら良いのでしょうか。「それでもある程度の仕事はしなければならぬ」という至上命令を科せられて居るとすれば、そして入用だからといったとて何処からでも出て来る金ではないとすれば最近の編集方針の改

正もまたやむをえないことになります。

もっと根本的に考えて雑誌（邦文）無意味論までも出て来るのも無理からぬ所でもあります。最近原著の投稿が減ったということを手ばなしで喜べない所以もあります。原著や短報もいまは全額著者負担にして頂いたから良いではないかともいえません。最小限度学会報、各地小学会や総会報などは出さねばなりませんし、頁数が多くなれば送料も馬鹿にできないことになります。

世界のお偉方全部がこの stagflation という怪物の正体の分析だけはしたようですが、その対策は誰もいまのところ持たないという現状なので、われわれごときの問題ではないようです。

（戸塚武彦）

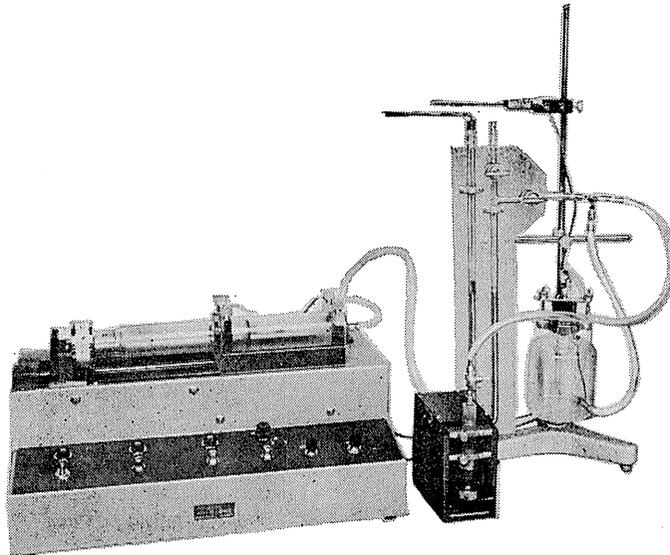
編集委員

塚田 裕三(幹事)	入内島 十郎	酒井 敏夫
植村 慶一	戸塚 武彦	大島 知一
村田 計一	菅野 富夫(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



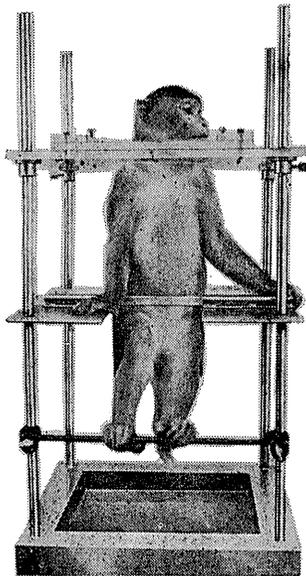
本装置は機械的刺激によるマウスの仮性疼痛反応閾値上昇から薬物の鎮痛効果を測定する装置であります。

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出来ます。

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。
- 汚物を取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
- (2) 採血及採尿
- (3) 生体電気現象の誘導
- (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. 37, No. 13 (1975)

Original

MIYAMOTO, K. : Electroencephalographic studies on classically conditioned
 defensive reflex and avoidance lever-pressing in the dog..... 45

Short communication

MATSUMOTO, H., YABU, H. and MIYAZAKI, E. : Ca-binding protein in
 intestinal smooth muscle 16

昭和五十年 二月二十日印刷

編集兼
 発行人

塚
 田
 裕
 三

東京都文京区本駒込二丁目二八十二番
 東京文庫社
 日本生理学会誌

印刷者
 印刷所

山形県鶴岡市山町一四の三
 三浦 経夫

鶴岡印刷株式会社

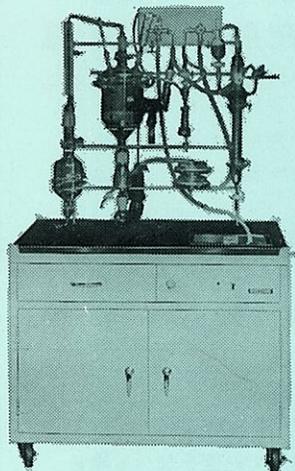
発行所

〒一三三
 東京都文京区本駒込二丁目二八十二番
 東京文庫社
 日本生理学会

日本生理学会

電話
 振替
 九四五一二八四〇〇
 東京
 三六四三〇〇
 三百五十三円

NAIUME KM式動物吸気¹⁴CO₂計測試料採取装置



*** 使用目的 ***

- 投与標識物質の収支決算としての吸気排出率の測定。
- 動物の一般代謝の指標として、特定物質（¹⁴C-Glucose などの Oxidation Test.
- 薬物の作用機構の解明手段として、代謝系路のよく判っている物質の代謝に、目的の薬物がどのような作用を示すか……。

*** 本装置の構成 ***

- | | |
|---------------|-----------------|
| 1. 除埃用プレフィルター | 11. 脱水器 |
| 2. 乾燥、炭酸ガス吸収塔 | 12. 吸収塔 |
| 3. 流量計 | 13. 吸収液注入瓶 |
| 4. 温度計 | 14. 積分測定用試料採取装置 |
| 5. 動物チャンバー | 15. 微分測定用試料採取装置 |
| 6. 給水瓶 | 16. コールドトラップ |
| 7. 採尿瓶 | 17. ポンプ |
| 8. ステンレス床鋼 | 18. 樹脂製フード |
| 9. 採糞瓶 | 19. 移動式台車 |
| 10. 給餌器、餌屑採取瓶 | |

実験動物解剖器具・一般研究実験器械器具・動物実験器械器具・動物飼育管理器具

株式会社 夏目製作所

東京都文京区湯島2丁目18番6号
 電話 03(813)3251 (代表)