

蛙皮ノ「ヒヨリンエステラーゼ」量及ビ 夫レニ及ボス2,3藥物ノ影響

岡山醫科大學生理學教室(主任生沼教授)

河 野 實

第1章 緒言

Dale, Loewi 等ニヨツテ提唱セラレタ所謂神經興奮ノ液體傳導說以來, Acetylcholin (ACh) ノ生理學的意義ニ關シテハ其ノ研究至ラザルナシト云フ有様デアル。然ルニ一方 ACh ノ分解酵素デアル Cholinesterase (ChE) ノ研究ニ至ツテハ、前者ニ比較シテ極ク尠イ觀ガアル。其ノ上後ニ詳シク述ベルヤウニ、其ノ測定方法モ亦區々デアツテ、從ツテ其ノ實驗成績ハ一致ヲ缺ク憾ミガアル。Nachmansohn ノ蛙ニ於ケル實驗成績ニヨレバ、組織内ノ神經終末ノ密度が大ナル程 ChE ノ濃度ハ大デアルト云ヒ、吾教室ノ米澤ハ諸種動物ノ色々ノ組織ニ含有セラレル ACh ト ChE ノ相互關係ヲ檢ベタ結果、ACh ノ含有量ノ多イ組織ニハ ChE モ亦多量ニ存在スルコトガ證明セラレタト云ヒ、兩者ガ機能的ニ密接ナル關係ヲ有スルコトヲ明カシタ。

特ニ最近 Nachmansohn 其ノ他ハ所謂電氣魚ノ發電器官中ニ多量ノ ChE ガ含有セラレルコトヲ證明シ、私モ亦日本産「しびれえひ」(Narke japonica) ヲ檢材材料トシテ此點ニ關シ追試ヲ試ミ、Nachmansohn 等ノ所見ヲ確認スルト共ニ、發電器官中ニハ又多量ノ ACh ヲ含有スルコトヲ併セ證明シ、藝ニ米澤ガ述ベタ所說ハ「しびれえひ」ノ發電器官ニ於テモ適用セラレルコトヲ知ツタ。

處デ所謂發電魚ノ發電器官ナルモノハ、發生學

上カラコレヲ觀ルトキ、筋肉組織カラ變化シタモノト、皮膚ノ上皮細胞カラ變形シタモノト2種ニ區別セラレル。「電氣えひ」(Torpedo marmorata, Narke japonica) 及ビ「電氣うなぎ」(Gymnotus electricus) ノ發電器官ハ前者ニ屬シ、「電氣なまづ」(Malapterurus electricus) ノ發電器官ハ後者ニ屬スル。從來ノ研究ニヨレバ筋肉内ニ含有セラレル ACh 及ビ ChE 量ハ、他ノ組織ニ較ベテ略ボ中等度ニ位スルガ、夫レカラ變形シタ發電器官ニ於テハ ACh 及ビ ChE 共ニ比較ニナラヌ程多量ニ含有セラレテ居ル。皮膚ノ上皮細胞カラ變形シタ發電器官ヲ有スル「電氣なまづ」ニ就テハ未ダ研究セラレタノヲ聞カナイガ、恐ラク其ノ發電器官中ニハ多量ノ ACh 及ビ ChE ガ含有セラレルモノト想像セラレル。然シコノ材料ハ今急ニ得難イノデ實驗ハ不可能デアル。處デ果シテ然ラバ發生學的ニ同一デアアル皮膚、特ニ分泌腺ヲ多數ニ持ツテキル皮膚デハコノ關係ガ如何ト考ヘ、最モ容易ニ材料ヲ得ラレル蛙皮ニ就テ此點ニ關シテ實驗ヲ行ツタノデアアル。尙ホ夫レニ附隨シテ ChE ノ働キニ及ボス藥物ノ影響ニ關シテモ觀察ヲ行ツタ。

第2章 實驗方法

1) ChE ノ定量法ニ就テ

ChE ノ定量法ハ大別スルト2ツトナル。其ノ1ハ所謂物理化學的方法ト稱ス可キモノデ、他ノ1ツハ生物學的方法デアル。何レノ法モ其ノ原理ハ一定

時間内ニ分解セラレタ ACh 量ヲ測定シ、是カラ逆ニ ChE 量ヲ換算スルニアル。今兩法ヲ比較検討シテ其ノ優劣ヲ批判シテ見度イ。

A) 理學的の定量法

此内ニモ初メ Stedman ガ行ツタヤウニ、ChE ニヨツテ分解セラレタ ACh カラ遊離セラレタ醋酸ヲ苛性曹達ヲ以テ滴定スルコトニヨツテ、分解セラレタ ACh 量、從ツテコレカラ ChE 量ヲ定メル法ト。初メ Ammon ガ創始シタヤウニ Barcroft-Warburg ノ微量呼吸管ヲ用ヒテ、ChE ニヨツテ分解セラレタ ACh カラ遊離セラレタ醋酸ガ溶液トシテ使用シタ重碳酸曹達ヲ含ム「リッゲル液」カラ當量ノ炭酸排出シ、其ノ炭酸量ヲ壓力計ノ讀ミカラ求メ、逆ニ ChE 量ヲ定メル法トガアル。

前者ノ方法ニ關シテハ吾教室ノ米澤モ追試ヲ行ヒ、精密度ノ點デハ非常ニ勝レ、理論値ニ略ボ一致シタ實測値ヲ得ルガ、試薬、測定ノ操作等ノ點デ稍々繁雜ノ嫌ヒガアリ、實用的ニハ餘リ便利トハ稱シ難イ。此點ハ後者ノ方法ニ就テモ云ヒ得ル處デアリ、同時ニ兩法共ニ可成リ濃厚ナ ACh ヲ必要トシ、且量 ChE 液ノ反應モ生理的條件トハ云ヘナイ。

B) 生物學的の定量法

此内ニモ檢出體トシテ用ヒル材料ニヨリ、水蛭背筋法、蛙ノ心臓、直腹筋、或ハ腓腸筋ヲ用ヒル法、家兎ノ腸管、血壓ヲ用ヒル法等種々アル。私ハ今此處デ個々ノ方法ノ優劣ヲ論ズルコトハ省略スルガ、吾教室ノ米澤ハ之等ノ方法ヲ比較検討シタ結果、蛙直腹筋法ガ最善デアルト云フ。依ツテ私モ亦コノ方法ニ遵據シテ實驗ヲ行ツタ。

一般ニ生物學的ノ檢査法ハ、精密度ノ點デハ劣ルケレドモ、ACh ノ濃度ニシテモ又之ニ働カセル ChE ニシテモ略ボ生理的ノ状態ニ近い條件デ檢査ガ行ハレ得ル利點ガアリ、又感度ノ點デモ理學的方法トハ比較ニナラヌ程鋭敏デアル。

2) 私ノ用ヒタ ChE 定量法

上記ノ理由ニヨツテ私ハ蛙直腹筋ヲ用ヒル生物學的の定量法ニヨツテ ChE 量ヲ定量シタノデアルガ、今コノ方法ニ就テノ2,3注意スベキ事項ヲ述ベル。

イ) 檢出體

♀蛙ノ直腹筋ハ♂蛙ノモノニ比較シテ薄ク、ACh ニ對スル感度モ亦遙カニ良好デアルカラ實驗ニハ總テ♀蛙ヲ使用シタ。即チ蛙直腹筋ヲ剔出シ、左右何レカ1側ヲトツテ兩端ヲ糸デ縛リ、コレヲ描寫槓杆ニ連結裝備スル。槓杆ノ軸ニハ略ボ1gノ重錘ヲツケテ筋ヲ僅カニ緊張伸展セシメル。當初數回ノ間ヘ ACh ノ適用毎ニ筋ノ ACh ニ對スル感度ガ増強スルカラ、何回カ1:10⁶ ACh-Ringer 液ヲ作用サセテ感度ガ一定ニナツテカラ本實驗ニ移ル。

ロ) ACh ノ濃度測定法

ACh ノ適用ニヨル筋ノ短縮ハ緩ク廻轉スル圓筒ニ貼リ付ケタ燻煙紙上ニ描記セシメル。

紙上ノ筋ニ先ツ種々ノ既知濃度ノ ACh ヲ作用セシメテ、其ノ時ノ曲線ヲ記録スル。曲線ノ上昇起始點カラ一定距離ニ於ケル曲線ノ高サヲ測リ、ACh ノ濃度ヲ槓軸ニ、短縮高ヲ縱軸ニトツテコレヲ「グラフ」ニ表セバーツノ曲線得ル。次ニ未知濃度ノ ACh ヲ作用セシメテ其ノ短縮高ヲ同様ニシテ求メ、コレヲ上記「グラフ」ノ曲線ニ照合スレバ、ACh ノ濃度ヲ知り得ル。筋ノ感度ハ時間ト共ニ多少變化スルカラ、本實驗ノ最初ト最後トニ夫々同一濃度ノ ACh ヲ作用セシメ、兩者ノ短縮高ノ平均値ヲトツテ前記ノ ACh 濃度一短縮高曲線ヲ作ル。

ハ) ACh 溶液

ACh ハ Roche 製ノ鹽化 ACh ヲ用ヒ、豫メ蒸溜水ヲ以テ1:10³溶液トシタモノヲ青色堁ニ入レテ氷室中ニ貯ヘ、用ニ臨ンデコレヲ0.6% Ringer 液(重曹ヲ除ク)ヲ以テ適宜稀釋シテ用ヒル。

ニ) ChE 粥

蛙數匹ヲ捕ヘ、他ノ組織ノ附着シナイヤウニシテ鉄ヲ以テ皮膚ヲ切り取り、背側ト腹側トニ分チ、

夫々ノ被檢組織ヲ秤量シ、然ル後、乳鉢ニ移シ、充分細切破砕シテ後石英砂ヲ加ヘテ充分磨細シ、被檢組織重量1gニツキ0.6% Ringer液ヲ10ccノ割ニ加ヘ溶液ヲ作ル。其ノ溶液5ccヲトリ、之ニ $1:2.5 \times 10^5$ AChノ等量ヲ混和シ、蛙直腹筋ヲ檢體トシテ、時間的ニコレヲ作用セシメテ其ノ短縮曲線ヲ迴轉圓錐ノ燐煙紙上ニ描記セシメルトキハChEニヨツテAChガ分解セラレルニ從ツテ短縮高ハ漸次遞減シテ來ル。而シテ其ノ短縮高カラ混合液中ノACh殘存量ヲ上記ノ如クシテ知り得ル。如斯シテAChノ殘存量カラChEノ量ヲ知り得ル。

第3章 實驗成績

第1節 蛙皮ノChE含有量

著者ハ先ヅ腺組織ノ多イ背側蛙皮ノChE量ヲ知ラントシテ實驗シ、第1表ノ如キ成績ヲ得タ。

即チ實驗方法ノ處デ記シタヤウニ最初ノACh濃度ハ1cc中ニ2 γ デアルガ、背皮ChE粥ト混和後大凡2—2.5時間デコレガ完全ニ分解セラレル。

次ニ分泌腺ノ多イ背皮ト、分泌腺ノ少イ白色ノ皮ト。

第1表 蛙背皮ノChE量

經過時間	實 驗 例		
	例 1	例 2	例 3
30'	1.12	1.4	1.46
1.00'	0.8	1.0	0.96
1.30'	0.35	0.61	0.54
2.00'	0.2—0	0.5	0.44
2.30'		0—0.2	0—0.2

註：表中ノ數値ハ1cc中ノ殘存ACh量ヲ γ 單位デ表ス最初1cc中ニハ2 γ ノAChヲ有スル、以下ノ表モコレニ準ズ

第2表 背皮ト腹皮ノChE量ノ比較

經過時間	實 驗 例			
	例 1		例 2	
	可 檢 液 種 類			
	背皮膚	腹皮膚	背皮膚	腹皮膚
30'	1.5	1.55	1.4	1.5
1.00'	1.10	1.18	0.95	1.1
1.30'	0.58	1.00	0.5	0.8
2.00'	0.36	0.76	0.2以下	0.5

呈スル腹皮トノ組織粥ヲ作り、同一ノ檢體ヲ用ヒテ同時ニ検査シタルニ第2表ノ如キ成績ヲ得タ。即チ背皮ハ腹皮ヨリモ僅カニChE量ガ多イコトヲ認め得タ。

第2節 ChEノ作用ニ及ボス藥物ノ影響

諸種ノ藥物及ビ「イオン」ガChEノACh分解能ニ對シ色々ノ影響ヲ及ボス事實ガ知ラレ、就中Eserin屬ノ藥物ガChEノ作用ヲ抑制スルコトハ著明ナモノデアル。吾教室ニ於テモ福島、奥田等ガ此點ニ關シテ研究ヲ行ツテキル。著者モ亦、2, 3ノ藥物ガ蛙皮ノChEノ作用ニ及ボス影響ニ關シテ實驗ヲ行ツタ。

1. Pilocarpin.

上記ノ如クACh溶液ト蛙皮粥トヲ混和スル際ニ同時ニPilocarpinヲ1ccニ就テ0.5mg宛加ヘタモノト、然ラザルモノトニ就テAChノ分解能ヲ比較シタ處、第3表ニ掲ゲタヤウナ成績ヲ得、即チPilocarpinハChEノ働キヲ抑制スル。而シテコレノ濃度ノPilocarpinヲ單獨ニ働カシメノデハ筋肉内何等ノ反應ガ起ラナイ。

第3表 Pilocarpinノ影響

經過時間	實 驗 例			
	例 1		例 2	
	可 檢 液 種 類			
	對照液	「ピロカルビン」加被檢液	對照液	「ピロカルビン」加被檢液
30'	1.46	1.55	1.3	1.6
1.00'	0.96	1.42	0.9	1.5
1.30'	0.54	1.36	0.5	1.42
2.00'	0.44	1.18	0.3	1.4

2. Amylalkohol.

同様ニシテAmylalkoholノ作用セシメタ場合ノ成績ハ、第4表ニAmylalkoholハChEノ作用ヲ抑制スル。

第4表 Amylalkoholノ影響

時 間	對 照 液	「アミルアルコール」加被檢液
30'	1.12	1.56
1.00'	0.8	1.32
1.30'	0.35	1.06
2.00'	0.2—0	0.9

3. Urethan

前同様ニシテ混和液 1cc 中ニ Urethan ガ 1mg ニナルヤウニ加ヘタモノト、然ラザルモノノ間ノ ChE ノ ACh 分解能ヲ比較シタ。其ノ 1 例ヲ示スト第 5 表ノ如クナル。即チ ChE ノ作用ヘ Urethan ニヨツテ抑制セラレル。

第 5 表 Ure than ノ影響

時間	對照液	「ウレタン」加被檢液
30'	1.4	1.6
1.00'	1.0	1.5
1.30'	0.64	1.0
2.00'	0.4	0.9

4. Morphin.

前同様ニシテ混和液 1cc 中ニ Morphin ガ 0.5mg ニナルヤウニ加ヘタモノト、然ラザルモノトノ間ノ ChE ノ ACh 分解能ヲ比較シタ。其ノ 1 例ヲ示スト、第 6 表ノ如クナル。即チ ChE ノ作用ヘ Morphin ニヨツテモ亦抑制セラレルノヲ知ル。

第 6 表 Morphin ノ影響

時間	對照液	「鹽酸モルヒネ」加被檢液
30'	0.96	1.1
1.00'	0.3	0.52
1.30'	0—0.2	0.46
2.00'		0.41

上記ノ諸種ノ藥物ノ ChE ニ及ボス影響ヲ通覽スルノニ、程度ノ差ハアルケレドモ、總テ ChE ノ働キヲ抑制スル如ク作用スル。其ノ程度ハ實驗ノ範圍内ニ於テハ Pilocarpin ガ最も大デ、Amylalkohol コレニ次ギ、Urethan, Morphin ハ最も小サイ。

第 4 章 總括並ニ考按

絛上ノ如ク蛙皮ニ於テモ ChE ハ存在スルコトガ證明セラレ、而シテ其ノ分布ノ状態ハ分泌腺ニ富ム背皮ニ多量デアツテ、然ラザル白色ヲ呈スル腹皮ニ於テ少イ。私ハ同時ニ蛙ノ各組織内ニ含マ

レル ChE ニ就テハ同一方法ニヨツテ測定ヲ行ツテキナイガ、私ノ「しびれえび」ニ於ケル實驗、吾教室ノ米澤ノ實驗等ニ徴シテ觀テモ、一般的ニ云ヘバ蛙皮ノ ChE 量ハ神經組織、筋肉組織等ニ較ベルト遙カニ少量ナル。

Marnay 及ビ Nachmansohn ノ成績ニヨレバ横紋筋ノ運動神經終板中ニハ多量ノ ChE ヲ含有シ、横紋筋ノ含有スル ChE ハ其ノ中ニ分布スル運動神經終板ノ密度ニ比例スルト云フ。同様ノ理由ニヨリ、氏等ハ末梢ノ神經節及ビ中枢神經ニ多量ノ ChE ヲ有スルコトハ單位容積ノ組織中ニ多數ノ Synapse ヲ有スルヲ解釋シテキル。Nachmansohn ハコノ考ヘヲ押進メテ「電氣うなぎ」ノ發電器中ニ多量ノ ChE ヲ含有スルモノ亦、該組織ノ發電堆ヲ構成スル個々ノ細胞ニ 1 ヲ宛神經終末ガ分布シ、從ツテ其ノ分布密度ガ非常ニ大ナルヲ主張シテキル。コノ解釋ヲ蛙皮ニ適用シテ考ヘテ見ルト次ノ如クナル。

蛙皮ガ知覺神經及ビ分泌神經ノ分布ヲ受ケテキルコトハ確カナルガ、皮膚ノ組織學的構造カラ見ルトキ、主トシテ結締織カラナリ、全體トシテミルトキハ神經ノ終末裝置ノ分布密度ハ甚ダ小サイト考ヘナケレバナラナイ。從ツテ ChE ノ含有量モ少イ結果ニナル。併シ作ラコレガ機能的ニ重要ナル役割ヲ演ズルデアラウコトハ、本川ガ蛙皮ニ ACh ヲ作用サセタキノ皮膚ノ活動電流ガ、恰モ皮膚ニ至ル神經ヲ刺戟シタトキニ見ラレルト同様デアツタト報告シテキルコトカラモ充分想像セラレル處ナル。

次ニハ ChE ノ作用ニ及ボス藥物ノ影響ナル。麻醉藥ガ酵素ノ作用ヲ抑制スルコトハ Meyerhof Lassikyhi 其ノ他ニヨツテ種々ノ酵素及ビ麻醉藥ニ就テノ實驗カラモ明カナ處デア。而シテ Meyerhof ノ考ヘニ從ヘバ、其ノ作用機轉ハ麻醉藥ニヨツテ表面張力ノ變化ヲ起シ、酵素ノ表面ニ於ケル可逆的ノ吸着抑制ヲ來スタメデアルト云フ。著者ノ得タ Amylalkohol, Urethan, Morphin

等ノ抑制作用モ亦上述ノ如キ理由ニヨル。而シテ其ノ成績ハ Bernheim 及ビ教室ノ奥田ガ脳組織ノ ChE = 及ボス Morphin ノ抑制作用, 同ジク奥田及ビ Björn ノ心筋ノ ChE = 及ボス Urethan ノ抑制作用, Björn, Galehr 及ビ Plattner ノ Amylalkohol ノ抑制作用ニ就テ報告セル成績ト全ク一致スル。

由來 Pilocarpin ハ副交感神経ノ末端ヲ刺戟シテ恰モ該神経ヲ興奮シタトキト同ジ效果ヲ表ス。其ノ點デハ ACh ノ作用ト外見上酷似スルモノガアル。從來其ノ作用機轉ニ關シテハ何等ノ説明ガ加ヘラレテ居ラナイガ, 著者ノ得タ成績, 並ニ Nachmansohn 及ビ Ammon 等ノ成績ニヨツテ Pilocarpin ノ作用ハ ChE ノ作用ヲ抑制シテ副交感神経素デアル ACh ノ作用ヲ増強, 持續セシメテ其ノ結果副交感神経ヲ刺戟興奮セシメタト同ジ效果ヲ表スト考フルコトガ出來ル。

最後ニ出發的ニ歸ツテ緒論中ニ述ベタ事ニ關シテ一言シ度イ。蛙皮ニ含有セラレル ChE ガ少イカラト云ツテ, 皮膚カラ變形シタ發電器官ヲ有スル「電氣なまづ」ノ發電器官中ノ ChE ガ少イトハ斷言出來ナイ。吾等他ノ電氣魚ノ發電器官ト同様ニ多量ノ ChE ヲ含有スルト考ヘラレル。何トナレバ私ノ「しびれえび」ニ於ケル實驗カラモ, Nachmansohn 等ノ「電氣うなぎ」ニ於ケル實驗

カラモ知ラレルヤウニ, 筋肉カラ變形シテ出來タ發電器官中ノ ChE ハ筋肉内ノ ChE ノ含量ニ較ベテ比較ニナラヌ程多量デアル。恐ラク「電氣なまづ」ノ皮膚ト皮膚カラ變形シテ出來タ發電器官トノ間ノ ChE ノ關係モ彼上ノ如キモノト考ヘラレル。

第5章 結 論

蛙皮ノ中ニ含有セラレル ChE 量ヲ, 蛙直腹筋ヲ以テスル生物學的検査法ニヨツテ定量シテノ結論ニ到達シタ。

1) 蛙皮ノ ChE 含有量ハ背皮ノ方ガ腹皮ヨリモ大デアル。然シ一般的ニ見テ其ノ含有量ハ少量デアル。

2) Pilocarpin, Amylalkohol, Urethan, Morphium ハ總テ蛙皮ノ ChE ノ作用ヲ抑制シ, 其ノ程度ハ Pilocarpin ガ最も大キク, Amylalkohol コレニ次ギ, Urethan 及ビ Morphin ハ最も小サイ。

3) 上記ノ成績ニ基ヅイテ蛙皮ニ於ケル ChE ノ生理學的意義及ビ ChE ノ作用ニ及ボス上記薬液ノ作用機轉ニ關シテ考察ヲ加ヘタ。

摺筆スルニ當リ恩師生沼教授ノ御懇篤ナル御指導ト御校閲トニ深く感謝ス。

文 獻

1) Ammon, R., Pflüger's Arch. 233, 486, 1934; Enzymforsch. IV, 102, 1935. 2) Ammon, R. u. H. Kwiatowski, Pflüger's Arch. 234, 269, 1934. 3) Bernheim, F. & M. L. C. Bernheim, J. Pharmacol. 57, 427, 1936. 4) Björn, C. R. Soc. Biol. 98, 807, 1928. 5) Couteaux, R. & D. Nachmansohn, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 43, 177, 1940. 6) Feldberg, W., A. Fessard & D. Nachmansohn, J. Physiol. 97, 3-5P. 1940. 7) 福島, 岡醫雜 第54年 594頁 昭17年. 8) Kosaka, H. & M. Kōno, Arbeit. Okayama Med. Fakultät, 7, (印刷中) 9) Marnay, A. & D. Nachmansohn, J. Physiol. 89, 359, 1937; C. R. Sec. Biol. 124,

942; ibid. 125, 41, 1937. 10) Meyerhof, O., Pflüger's Arch. 156, 251, 1914. 11) 本川, 日本生理學雜誌 4卷 82頁 昭14年. 12) Nachmansohn, D., C. R. Soc. Biol. 130, 1939; Yale J. Biol. & Med. 12, 565, 1940; Science, 91, 405, 1940. 13) Nachmansohn, D. & B. Meyerhof, J. Neurophysiol. 4, 348, 1941. 14) Nachmansohn, D., C. W. Coates & R. T. Co., J. gen. Physiol. 25, 75, 1941. 15) 奥田, 岡醫雜 54年 1130頁 昭17年. 16) Plattner, F. u. O. Galehr, Pflüger's Arch. 220, 606, 1928. 17) 米澤, 岡醫雜 54年 691, 861, 1072 頁 昭17年.

(特掲 昭和 18 年 3 月 20 日受稿)