

# カブトガニ個眼の活動電位に対する 第4級アンモニウム・イオン ならびにリチウム・イオンの影響

東京女子医科大学生理学教室 (主任 菊地鎌二教授)

内 藤 恵 一  
ナ イ ト ユ ケ イ イ チ

(受付 昭和38年8月31日)

## 序 論

多くの興奮性組織では、その興奮性—活動電位の発生—を保持するために、外液中に  $\text{Na}^+$  が不可欠であると考えられている。これに関して特に筋、神経について多くの研究が報告されている。

1902年 Overton は蛙の筋を用い、その興奮性の維持には、外液中に  $\text{Na}^+$  が必要なこと、および  $\text{Na}^+$  以外の陽イオンでは  $\text{Li}^+$  が  $\text{Na}^+$  と同様な働きを持つことを報告した。

その後微小電極法の発達に伴い、ヤリイカの巨大神経線維 (Webb & Young, 1940<sup>45</sup>); Hodgkin & Katz, 1949<sup>18</sup>), コウイカの巨大神経線維 (Keynes, 1951<sup>23</sup>), カニの神経線維 (Katz, 1947<sup>22</sup>), 両棲類の有髄神経線維 (Kato, 1936<sup>21</sup>); Erlanger & Blair, 1938<sup>5</sup>); Lorente de Nó, 1947<sup>33</sup>); Feng & Liu, 1949<sup>8</sup>); Huxley & Stämpfli, 1951<sup>19</sup>), 哺乳類のプルキニエ線維 (Draper & Weidmann, 1951<sup>4</sup>), 等で活動電位発生には外液中に  $\text{Na}^+$  が不可欠であることが判明した。

$\text{Li}^+$  に関しては、蛙の筋肉 (Overton, 1902<sup>30</sup>), およびヤリイカの巨大神経線維で外液中の  $\text{Na}^+$  を  $\text{Li}^+$  に置換しても興奮性が維持されることが示された (Hodgkin & Katz, 1949<sup>18</sup>)。これに反して、蛙の神経では  $\text{Li}^+$  はその興奮性を失わせるといわれる (Gallego & Lorente de Nó, 1947<sup>11</sup>)。

一方、Fatt & Katz (1951<sup>6</sup>) によれば、甲殻類の筋は、外液中に  $\text{Na}^+$  がなくとも塩化コリン, tetraethylammonium chloride (TEA), tetrabutylammonium chloride (TBA) が存在すると、その興奮性が保持されるのみならず、発生する活動電位の大きさも、持続時間も共に増大することを見出した。また甲殻類の神経線維 (Burke & Katz, 1953<sup>1</sup>) では、 $\text{Na}^+$  の存在において、TEAによる活動電位の下降期の延長がみられるだけであるが、蛙の神経の Et 線維<sup>32</sup>) では (Lorente de Nó, 1949<sup>33</sup>) ある種の第4級アンモニウム・イオンが  $\text{Na}^+$  の代りをすることがわかった。なお哺乳類の平滑筋でも塩化コリンは  $\text{Na}^+$  の代りをするという報告がある (Burnstock & Straub, 1958<sup>2</sup>)。

その他では、guanidinium イオンが蛙の神経の A 線維で (Larramendi & Lorente de Nó, 1956<sup>31</sup>), また hydrazinium イオンが蛙の筋線維で (Koketsu & Nishi, 1959<sup>30</sup>) それぞれ  $\text{Na}^+$  と同等な働きをすることが報告されている。

以上のごとく各種動物の活動電位の発生に  $\text{Na}^+$  が必要であるが、それは体内にないある種のイオンによつて  $\text{Na}^+$  の作用を代行できる。しかし各興奮性組織によつて相異があることがわかる。

著者の教室では、以前からガブトカニの個眼か

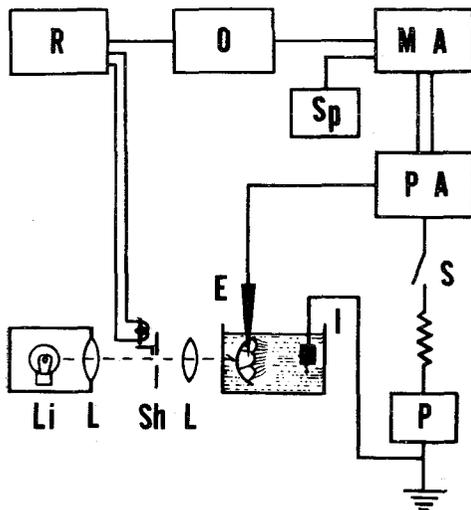
Keiichi NAITO (Department of Physiology, Tokyo Women's Medical College): Effects of quaternary ammonium and lithium ions upon the action potentials recorded from the ommatidia of the horseshoe crab.

ら得られる緩電位(Ommatidial action potential, OAP と略す)の性質を検索している。これは神経や筋と異り、光刺激によつてのみ出現し、大きさが光刺激強度に応じ all-or-none law に従わない。しかも非伝導性の反応である点が特徴である。すでにOAPの発生には、外液中に $\text{Na}^+$ が必要であるとの結論を得ている(Kikuchi, Naito & Tanaka, 1962<sup>27</sup>)。

本実験の目的は外液中のイオンと興奮性との関係を通じて、OAPの発生にあずかる形質膜の性質と、他の興奮性組織のそれとの異同を検討する研究の一環として、主として tetraethylammonium イオンと $\text{Li}^+$ のOAPに対する影響を検索することである。

### 実験方法

実験に用いた set-up は第1図のごとくである。切出した日本産カブトガニ (Tachypleus tridentatus) の複



第1図. 実験装置

注: E 微小電極, MA 主増巾器, R 遅延回路, I 不調電極, O オシログラフ, S スイッチ, Li 光源, P ポテンシオメーター, Sh シャッター, L レンズ, PA 前置増巾器, SP スピーカー。

眼中の一コの個眼に微小電極を刺入し、光照射の際に得られる細胞内の電位を増巾した後ブラウン管オシログラフで観察記録した。

1. 実験材料: カブトガニの眼を甲殻の一部とともに切り取り、剃刃で眼を横断すると、外側から内側へ透明な角膜、褐色嚢状の個眼、視神経叢が3層に配列してい

るのが見られる、これをカブトガニ用リングル(Kikuchi & Tanaka, 1957<sup>28</sup>)を満したプラスチック製小箱中に金属製の保持器で固定して実験に供した。日本産カブトガニの側眼もアメリカ産のカブトガニ(Limulus polyphemus)<sup>14)</sup>のものと同様に基本構造は同じで、一コの個眼は、みかんの房状に配列した約8~15個のretinula cellと、その房の中心部にある1~2個のeccentric cellとで構成されている(Ihnuma, Hokura, Tachi & Kikuchi, 東京女子医科大学第29回總會発表, 1963<sup>20</sup>)。この中の一コの細胞に微小電極を刺入することになる。

2. 外液: 各種イオンのOAPに対する影響を調べるため、以下のリングル液に標本を浸して実験を行なった。

まず正常リングルとして用いたのはKikuchi & Tanaka (1957)<sup>28</sup>が発表したカブトガニ用リングルで、その組成は $\text{NaCl}$ , 420 mM;  $\text{KCl}$ , 10 mM;  $\text{CaCl}_2$ , 10 mM;  $\text{MgCl}_2$ , 25 mM;  $\text{NaHCO}_3$ , 2 mM である。試験液としては、カブトガニ用リングル中の $\text{NaCl}$ のみを等張 $\text{LiCl}$ (430 mM),  $\text{TEAB}$ (500 mM),  $\text{TEA}$ (500 mM)でそれぞれ置換したもの、4種を用いた。(便宜上今これらをコリン・リングル,  $\text{Li}$ ・リングル,  $\text{TEAB}$ ・リングル,  $\text{TEA}$ ・リングルと呼ぶことにする)。

$\text{NaCl}$ と置換したこれらの塩類の濃度は、International critical table などから計算して得られたものである。

実験中標本の外液を他種リングルに換える場合は、電極は細胞に刺入したまま、外液を一隅から静かに吸引し去り、他種リングルを静かに満たすようにした。ただし、この時組織間に付着している液まで完全に除くことはできない。もちろん時間と共に新しい液によつて薄められてはゆくが、1回の溶液置換では約5~10%の液が残留するので、必要に応じて外液の置換を繰り返した。

### 3. 電極:

A) 3M  $\text{KCl}$  電極. 通常細胞外からの $\text{Li}^+$ の効果や $\text{TEA}$ ,  $\text{TEAB}$ の効果を知るためには3M  $\text{KCl}$ 溶液を満した硝子電極を用いた。3M  $\text{KCl}$ 中での50 cpsの交流に対する電気抵抗20~40  $\text{M}\Omega$ のものを選んで使用した。先端の直径は調べなかつたが0.5 $\mu$ 以下と推定される。なお電極抵抗は実験終了後にも測定し、良い結果の得られた実験では一般に電極抵抗の少ないことから、実験に際して電極の先端が、詰まつたり、折れたりすることが少ないと考えられる。

B)  $\text{TEAB}$ を満した電極.  $\text{TEA}^+$ を細胞内に注入するには、1Mの $\text{TEAB}$ 溶液を満した電極を用い

た。TEA, TEAB電極を作るには、多量のTEA,あるいはTEABを必要とするが、特にTEAは高価でかつ入手が困難なためにTEABの合成を行ない使用することにした。

TEABの合成。等モルの水酸化カリウムで脱水したtriethylamineとethylbromideとを、無水炭酸カリウムで脱水したアセトン中に混和し、30°C付近で2昼夜放置する。アセトンを吸引濾過し去り、無水芒硝で脱水したエーテルで洗滌すると白色粉末が得られる。これを褐色デシケーター中に乾燥保存する。この物質は265~267°Cで分解する。市販のTEABの分解点より1~2°C高いが、同一物質と認めることができる。

合成TEABのbioassay。分解点の測定結果からTEABが合成されたものと認定できるが、さらに同定を確めるため、TEABをカプトガニリングル中に溶解し、個眼の細胞内から誘導される後記の2種の活動電位に対する効果を調べた。その結果市販のTEAB,あるいはTEAと同一の効果を顕わすことを確めた。

1M TEAB電極の作製。TEAB溶液は98°Cで加熱しても20時間以上pHの變化がないと記されている(Stechner 1960<sup>27</sup>)。しかし、市販のものおよび合成品は煮沸(約102°C)すると次第にpHが減少することから、分解する可能性が考えられるので、ガラス電極中にTEABを満たすには、低温減圧下で行なうことにした。すなわち、室温(冬期であったので約10°C以下)中で約20分間10mmHg以下に減圧することによって満した。なおTEAB電極は30MΩ~80MΩのものを使つたが、良い結果の得られたのは大部分60MΩ以上のものであつた。電極の使用前保存は30°Cの孵卵器中に入れた。これにより結晶の析出を防ぐことができた。

細胞内tetraethylammoniumイオン注入。一般に小さな細胞内にイオンを注入する場合は、注入しようとするイオンと同一の極性を有する直流電圧を高抵抗を通して電極から流す方法、すなわち電気泳動法によつてゐる。本実験の初期においては、TEAB電極を通して外向き通電(微小電極を不働電極に對し陽にする)を行なつたが、通電を行なわなくても著明な活動電位の變化を認めたことから、以後通電を中止し、もつぱらTEABの細胞内への拡散による効果のみをみることにした。

4. 電位誘導および記録装置: 細胞内の電位は、前置増巾器(真空管12AU7を特殊条件で用い、grid currentを測定し、これが $10^{-12}$ A以下のものを選んで使用した)、補償回路(Tomita, 1957<sup>42</sup>)を経て主増巾器(直流差動増巾器)に導き増巾した後、ブラウン管オツシロ

グラフで観察記録した。また主増巾器出力の一部を、音声用増巾器を通してスピーカーに導き、実験中モニターとして用いた。

5. 光刺激装置: 刺激には一定の強さと、一定の照射時間とを持つた光を用いた。この時いわゆる、順応効果を考慮して、刺激の時間間隔を一定にした(特にことわつていない場合以外すべて1分)(Kikuchi & Tazawa, 1960<sup>29</sup>)。刺激光の光源は、暗箱に入つた白色光電球で、暗箱の一侧にあけた細孔から出た光をスリットと電球との中間に凸レンズを適当におき、電球のファイラメント像をスリット上に結ばせるようにした。刺激光はスリットに接続したマグネチックシャッターで斷続した。シャッターの作動は、遅延回路によつてブラウン管の掃引と同期せしめた。シャッターを通過した光は、凸レンズで集光して、角膜を通して個眼を照射するようにした。

6. 細胞内直流通電: 膜電位を變えるための直流通電電流は、第1図のごとく、ポテンシオメーターを用い、200MΩの高抵抗を介して誘導電極に与えた。本実験で用いられた通電電流は、 $10^{-9}$ Aのオーダーであつた。この場合、通電により膜抵抗や電極抵抗の値が變化するとしても、それによつて生ずる通電電流量の誤差は、通電電流が充分小さいことと、抵抗の變化分に比し充分大きい200MΩの抵抗を入れてあることにより、ほぼ無視できると考えられる。したがつて通電電流は印加電圧に比例し、時間的にはほぼ一定であると考えた。

なお実験は、室温15~20°Cで行なつた。

## 結 果

細胞内誘導によつてカプトガニ個眼から得られる電位變化は2種類ある。

その一つは、ゆるやかな一過性の脱分極でommatidial action potential (OAP)と名づけられているものである(Hartline, wagner & Mac Nichol 1952<sup>14</sup>)。

これは光刺激によつてのみ得られ、通常その脱分極の大きさは、刺激光の強度の対数に比例し、その持続時間は照射時間に比例し、照射間隔などに影響される(Kikuchi & Tazawa, 1960<sup>29</sup>)。

菊地らは<sup>29</sup>、電位變化の形からOAPを3部に分けている。すなわち、'dynamic phase'—光刺激を与えて最初に現われる急激な大きい脱分極相、'static phase'—'dynamic phase'に続く'dynamic phase'に比べ大きさが小さく、ほぼ一定の脱分極相、off-effect—光刺激を切つたあと

にみられる次第に復分極して静止電位へ戻るまでの相、である。

他の一つは、OAPに重畳し、あるいはまた光刺激を与えないときにも自発性に現れるところのスパイク放電である(考察参照)。

富田ら (Tomita, 1956<sup>34</sup>): Tomita et al., 1960<sup>36</sup>): Kikuchi, et al., 1962<sup>27</sup>): Fuortes, 1958<sup>9</sup>), 1959<sup>10</sup>) によれば、前者は個眼内の電極が刺入された細胞の形質膜の活動に由来する電位変化であり、後者は電極刺入による障害、脱分極または、OAPにより視神経終末に誘発される神経衝撃を electrotonic に誘導しているものと考えられている。したがって、この実験においてはこれら2種の電位のそれぞれについて各被験イオンの効果を観察した。

実験では外液中の  $\text{Na}^+$  を被験イオンと替える前にまず  $\text{Na}^+$  をコリンイオンと置換し、ついで被験イオンに置換した。興奮性組織に対するコリンイオンの性質は、すでに知られているところである。カプトガニの場合も、他の多くの興奮性組織の場合と同様、外液中の  $\text{Na}^+$  をコリンイオンと置換すると、静止電位は殆ど変化しないが、OAPの大きさは、可逆的に時とともに減少する (Kikuchi, Naito & Tanaka, 1962<sup>27</sup>)。すなわち、コリンイオンはOAPの発生には  $\text{Na}^+$  の代用となりえないが、あるイオンの活動電位に対する効果を調べるには適している。コリンは本実験の細胞の機能に対しては、比較的 inert なイオンであるといえる(考察参照, Fatt & Katz, 1953<sup>7</sup>)。

このような理由から今、 $\text{Na}^+$ -コリンイオン-被験イオンの順に外液を変えるとすれば、もし多少とも被験イオンがOAPの発生に関与しうるときは、コリンイオンで小さくなつたOAPは、被験イオンで幾分増大するはずである。

I tetraethylammonium イオンの活動電位に対する効果:

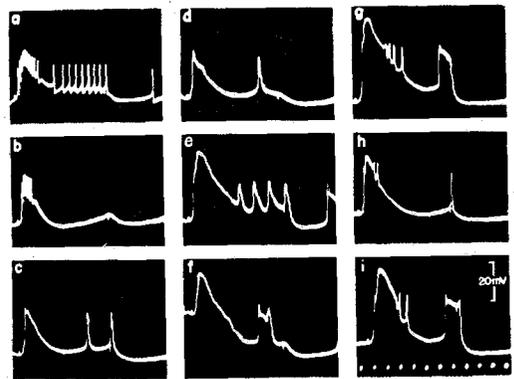
活動電位に対する tetraethylammonium イオンの効果を調べるために、外液中の  $\text{NaCl}$  を等張 TEA で置換したが、TEAの他に TEAB をも使用した。TEABを使用した理由は、前にのべ

たように TEA よりずつと入手し易く、合成も容易なことから、 $\text{Cl}^-$  と  $\text{Br}^-$  とは OAP に与える影響については、差のないことをすでに他の実験で確めてあるので(菊地, 1962<sup>24</sup>)、もし同一変化が両者でおこつたとすれば  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  は inert であるから共通イオンである tetraethylammonium イオンによると推論できるからである。

a) OAP に与える効果

i) TEA 第2図は、外液中の  $\text{NaCl}$  を TEA と置換した場合の活動電位の変化を示す記録の1例である。

図2中の a は正常リングル中における、カプトガニ複眼の光照射により発生する活動電位である。



第2図. TEAのOAPに対する効果:

a; 正常リングル中でのOAP, b; コリン・リングルにかえ24分後のOAP. c, d; TEAリングルにかえ4, 20分後のOAP. e, f, g; 再び正常リングルにかえ6, 20, 30分後のOAP. h; 再び正常コリンリングルにかえ6分後のOAP. i; 再び正常リングルにかえ8分後のOAP. 時標 0.1秒. Pipは光照射の開始および終了を示す。

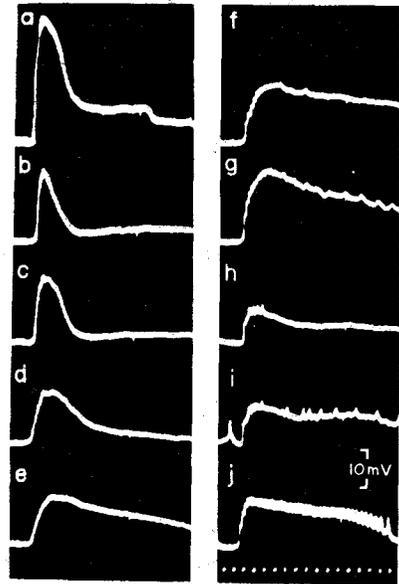
前述のごとく、視細胞に光照射を与えると、ゆるやかに分極する活動電位(OAP)と、それに重畳するスパイク放電とがみられる。

第2図bは、外液の正常リングルをコリン・リングルにかえて、24分後の記録である。bでは‘dynamic phase’の大きさがやや減少している。‘static phase’の大きさも明瞭に減少し、静止時の膜電位より過分極の状態を示した。同時に自発放電は消失し、OAPに重畳するスパイクも著明

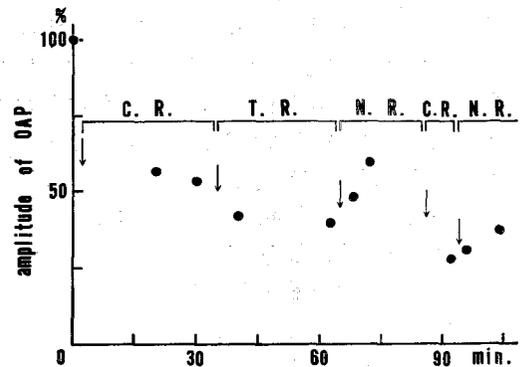
に減少している。続いて外液(コリン・リングル)をTEA・リングルと置換すると(第2図C), OAPの大きさはやや増大し, 'dynamic phase'の大きさはほとんど正常リングル中における値までに回復したが, 'static phase'の大きさは完全に回復していない。OAPに重疊して発現したスパイクは, 正常リングル中のもの(第2図a)に比し, 大きさの増大, 持続時間の延長がみられる。Cから16分後の記録(第2図d)では, OAP, スパイクともCと殆ど変化がない。外液を再び正常リングルに変えると(第2図e), OAPの著明な増大が見られ, その大きさは正常リングルの場合の約2倍に達した。OAPに重疊するスパイクは持続時間の著明な延長がみられる。光照射後にあらわれたスパイクは, 延長が一層著明である。第2図fは, e から16分後の記録である。延長したスパイクに連続してOAPが発生したため, OAPの上昇期が明瞭でない。OAPに重疊したスパイクはeに比し, 更に延長している。fから10分後(第2図g)には, OAPの'dynamic phase'の大きさは, eの場合よりさらに増大し, 正常(第2図a)の約2~3倍に及んだ。

TEA・リングル—正常リングルによつて生じたOAPならびにスパイクの変化を再度確める意味で, 外液を再びコリン・リングルに変えた(第2図h)。OAPの大きさもスパイクの持続時間も減少した。外液を正常リングルに変えると, OAPは増大し, スパイクは延長した(第2図i)。

ii) TEAB 同様な実験をTEABについて行なつた(第3図)。第3図aは正常リングル中でのカプトガニ個眼の光照射による活動電位である。b,cは外液をコリン・リングルに変えて, それぞれ20分ならびに30分後の記録である。これを外液をTEAB・リングルに変えると(第3図d,e) OAPの大きさは変わらないが, eで, OAPの下降期の延長がみられる。外液を正常リングルに変えると(第3図f,g), OAPの増大と下降期の延長がみられ, gではこの変化がさらに顕著となる。再びコリン・リングルに変えると, OAPは小さくなる(第3図h)。これを正常リングルにか



第3図. TEABのOAPに対する効果: a; 正常リングル中でのOAP. b,c; コリン・リングルにかえ20, 30分後のOAP. d,e; TEAB・リングルにかえ4, 31分後のOAP. f,g; 再び正常リングルにかえ3, 7分後. h; 再びコリン・リングルにかえ6分後. i,j; 再び正常リングルにかえ1, 10分後のOAP. 時標 0.1秒。



第4図. TEABのOAPに対する効果: C.R. はコリン・リングル, T.R. はTEABリングル, N.R. は正常リングル, 対照のOAPの高さを100%とした。

えるとOAPの大きさならびにスパイクの数と大きさが次第に増してくる(第3図i,j)。

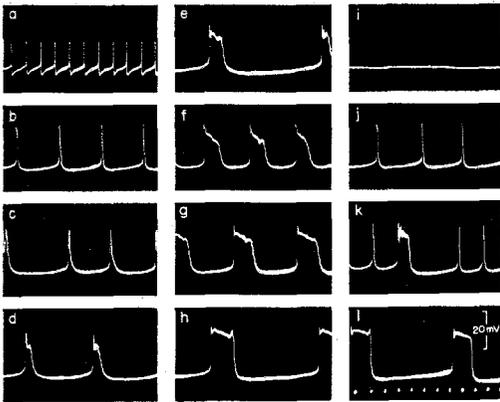
第2図および第3図第4図から, OAPは, コリン・リングル中では高さが減少する。第4級ア

ンモニウムイオンとして用いたTEAおよびTEAB中では、対照に比し高さの増大はみられない。しかし一度TEAおよびTEAB・リングル中に浸した標本は、第2回目の正常リングル中で初めの正常リングル中の反応より増大していることがみられた。TEABの場合は、正常の大きさまでは回復しなかつたが、これについては後で觸れる(考察参照)。

他の実験で、 $\text{Cl}^-$  と  $\text{Br}^-$  とのOAP発生に対する効果は殆ど差がないという結果を得ているので(菊地, 1962<sup>24</sup>)、このことを考慮すると、上述の事実から tetraethylammonium イオンが、 $\text{Na}^+$ の存在において、OAPを発生する形質膜活動時に特別な加重効果を与えると考えられる。

#### b) スパイクに与える効果

##### i) TEA 第5図は、TEAのスパイクに



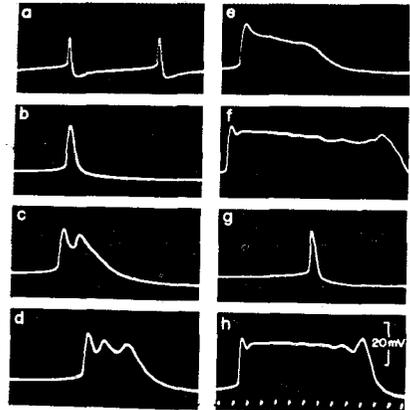
第5図. TEAのスパイク電位に対する効果と矩形波状電位の発生:

a; 正常リングル中でのスパイク. ついでコリン・リングルにかえ、さらに b,c,d,e; TEAリングルにかえ2, 4, 15, 19分後のスパイク電位. f,g,h; 再び正常リングルにかえ5, 7, 32分後. i; コリン・リングルにかえ1分後. j,k,l; 再び正常リングルにかえ、直後、3, 8分後. 時標は0.1秒.

対する効果を示す。この記録は第2図に示したものと同一標本から得たものである。第5図aは正常リングル中における自発性放電で、この持続時間は約20msecであつた。外液をコリン・リングルにかえると、自発性放電は消失した。第5図b,c,d,eは、コリン・リングルをTEA・リングルに

かえてから経時的にとつた記録である。スパイクの持続時間は次第に延長し、eでは100msec以上に達し、またその高さもaに比し約1.5倍に増大している。外液を正常リングルに変えると、スパイクはより延長し、約200msec(h)にも達し、その波型は短形波状になり明瞭な positive phase (undershoot, または after-hyperpolarization) を伴っているのがみられる。この短形波状電位の大きさや持続時間はある条件ではヤリイカの巨大神経線維<sup>41</sup>)同様に一定の形に達することがわかつた(第5図f,g,h)。コリン・リングルに変えると、スパイクは再び消失した。これを正常リングルにもどすと、スパイクが出現する(第5図j,k,l)。jでの波型はbのそれに酷似している。kでは、持続時間の短い自発放電と、長いものとの混在がみられる。lでは、持続時間の長い短形波状電位がみられ、大きさ、持続時間がhにおける短形波形状電位とほぼ等しい一定した電位となつた。

既にスパイクもまたOAPと同様、その発生に $\text{Na}^+$ が関与しているだろうということが報告されている(Kikuchi et al., 1962<sup>27</sup>)。第5図に示した実験ではコリン・リングル中で自発性放電は消失し(a,b間での自発性放電の消失記録がある



第6図. TEAのスパイク電位に対する効果と、矩形波状電位の発生:

a; 正常リングル中でのスパイク. ついでコリン・リングルにかえ、さらに b,c,d; TEAリングルにかえ、直後、8, 9分後の記録. e,f; 再び正常リングルにかえ4, 14分後. g; 再びコリン・リングルにかえ5分後. h; 再び正常リングルにかえ10分後. 時標0.02秒.

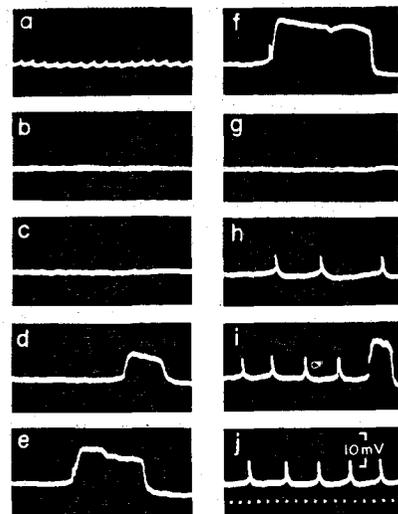
が図中より省いた), TEA・リングル中で発現している (b-e). コリン・リングルから TEA・リングルに置換して生じたスパイクの増大ならびに延長は, i におけるスパイクの消失および他の同様の実験から, 残存するわずかの  $\text{Na}^+$  TEA イオンとの共同作用によつて起つたものであろうと思われる. OAP の場合と同様に, TEA はスパイクの加重的増大と延長をもたらす. 甲殻類の筋について, Fatt & Katz (1953<sup>7)</sup>) が, TEA のみによつて同様な効果を認めているが, カプトガニの視細胞の場合は, 活動電位に前記の変化がおきるためには, TEA のほかに  $\text{Na}^+$  が不可欠であることが推定される.

第6図は, 第5図と同一の記録で, より早い掃引で記録したもので, 波形の変化, および持続時間の延長がより明らかである. 第6図aは正常リングル中でのスパイク放電の記録である. この後, 外液をコリン・リングルにかえてスパイクの消失をみた. さらに外液を TEA・リングルにかえ, 経時的に記録した (第6図 b.c.d). スパイクの頂部が, c では2峰, d では3峰に分れている. 再び正常リングルに戻すと (第6図 e.f), 持続時間は著しく延長し, 波動が重疊している. コリン・リングルにかえると (第6図 g), b と同様な波形が得られ, さらにこれを正常リングルにかえると (第6図 h), f と同様な波形が得られた.

Tasaki & Hagiwara (1957<sup>41)</sup>) によれば, ヤリカの巨大神経線維に TEA を作用させると, やはり次第に伝導性のスパイクの延長がみられるが, 最終的にはある明瞭な positive phase をもち一定持続時間をもつた活動電位に到達すると述べているが, 第6図にみられるスパイク頂部の波動は観察されていない. 本実験の電位変化は, むしろ甲殻類の筋に TEA を作用させた場合の活動電位 (Fatt & Katz, 1953<sup>7)</sup>) と類似している.

ii) TEAB 第7図に示した TEAB によるスパイクの変化は, 第3図の記録と同一実験中得たものである.

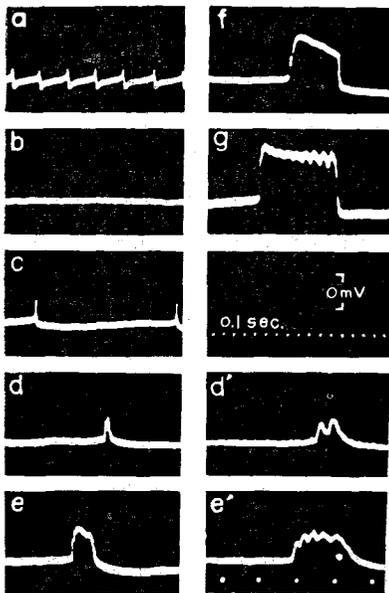
正常リングル中で出現したスパイク (第7図a) は, 外液をコリン・リングルにかえると消失する



第7図. TEAB のスパイク電位に対する効果と矩形波状電位の発生:

a; 正常リングル中でのスパイク電位. b; コリン・リングルにかえ21分後. c; ついで TEAB リングルにかえ32分後. d, e, f; 再び正常リングルにかえ2, 4, 12分後. g; 再び正常リングルにかえ5分後. h, i, j; 再び正常リングルにかえ直後, 2, 6分後. i でスパイク電位と矩形波放電との共存があることと, 陽性後電位の存在, スパイクとの大きな相違とに注意. 時標 0.1秒.

が (第7図 b), さらに外液を TEAB・リングルと置換してもスパイクは現われない (第7図 c). ついで, 外液を正常リングルにかえると, 持続時間の長い, 矩形波的な電位変化がみられる (第7図 d, e, f). e では持続時間はさらに延長し, 矩形波放電の立ち上りにスパイク様の電位変化が重疊しているのがみられる. f ではさらに延長し, 立ち上りのスパイクがさらに明瞭に認められる. ここで注目すべきは, d, e, f と時間を追つて, 矩形波状電位の大きさ, 持続時間が増すにつれて, undershoot の大きさが次第に増してゆくことである. f では, 矩形波状電位の変化も, それに続く undershoot も一定値に達し, これ以上の変化がみられなかつた. この時, undershoot は約10mV に達し, 矩形波電位の大きさも, 正常の値の数倍におよんだ. 外液をコリン・リングルにかえるとスパイクは再び消失した (第7図 g). これを正常リングルにかえるとまたスパイクが現われた (第7図 h, i, j). し



第8図. TEABのスパイク電位に対する効果と矩形波状電位の発生:

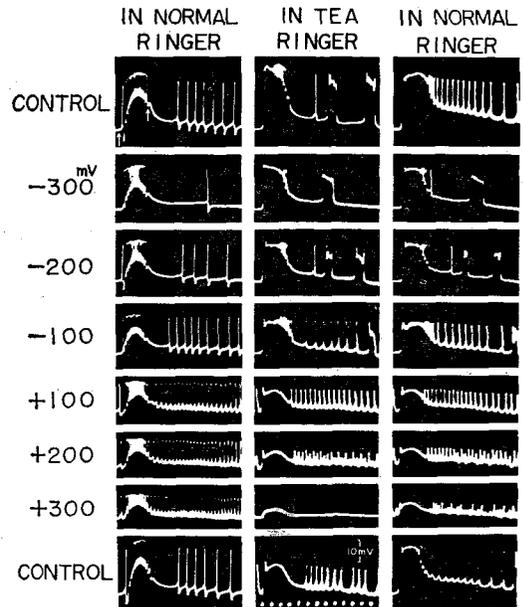
a; 正常リングル中でのスパイク電位, b; コリン・リングルにかえ 30分後. c,d,e; TEABリングルにかえ 1, 4, 6分後. f,g; 再び正常リングルにかえ 7, 30分後. d', e' はそれぞれ d,e とほぼ同時の電位変動を早い掃引で記録したもの. gにおける plateau 上の oscillation に注意. 時標 0.1 秒.

かしながら, 一度 TEAB で処置したあとのスパイクは, 高さも増大し, 持続時間も延長している. i では, 第5図 k と同様にスパイクと矩形波状電位との混在がみられる.

第8図も, 第7図と同様な実験で別の標本から得られた記録である. TEAB の作用でスパイクの増大と延長がみられるが,  $\text{Na}^+$  が存在するとスパイクの変化がきわだつて著明になることがみられる.

以上の事実から TEA ならびに TEAB によるスパイクの変化は,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  によるものではなく, 第4級アンモニウム・イオンである tetraethylammonium イオンの効果であると推定される.

C) TEA ならびに TEAB によつて生ずる変化, 特に矩形波状電位の二, 三の性質



第9図. TEAを作用させた後のOAPに対する直流通電効果:

向つて左列は正常リングル中での通電記録. 負電圧は過分極方向の通電, 正電圧は脱分極方向の通電. 中央列は正常リングル中に TEA 溶液滴下後の記録. 向つて右列は外液を正常リングルにかえて同様な実験を行つた記録. 時標 0.1 秒.

i) tetraethylammonium イオンを作用させた後の OAP に対する通電効果. この実験では, 外液は常に正常リングルで TEA の効果をみるためには, これに TEA 溶液を滴下した.

TEA 溶液の濃度は 500mM の割合で, カプトガニ用リングルで溶解してあり, 滴下により, 外液中の他のイオンの濃度が薄まらないようにした. 滴下量は最終濃度を計算すると約 45mM であつた.

実験結果を第9図に示した. 第9図左の列は, 正常リングル中で TEAB 溶液滴下前に通電を行つたものでこれを対照とした. 左の列の数値は, 各々その場合に, ポテンシオメーターで与えた電圧を示す. 負の記号は過分極(内向き)方向の通電, 又正の記号は脱分極方向(外向き)の通電をあらわす. しかしこの場合電極における junction potential を補正すると, 実質的にはこれらの数値に約 150mV を加えた電圧がかかること

なる。内向き通電をつよくすると、この例ではOAPの高さの減少がみられる。このような例は時々静止電位の大きい場合にもみられるものであつて、スパイクの高さの減少は、発生部に関する形質膜の膜抵抗の減少によると考えられ、内向き電流がスパイク発生部位の形質膜を通して流れていることは、スパイクの頻度の減少がみられることから推定できる。多くの場合過分極によるOAPの減少は $4-5 \times 10^{-9}$ A程度の過分極電流を通じた場合にみられる(Kikuchi & Tazawa, 1960<sup>29</sup>)。

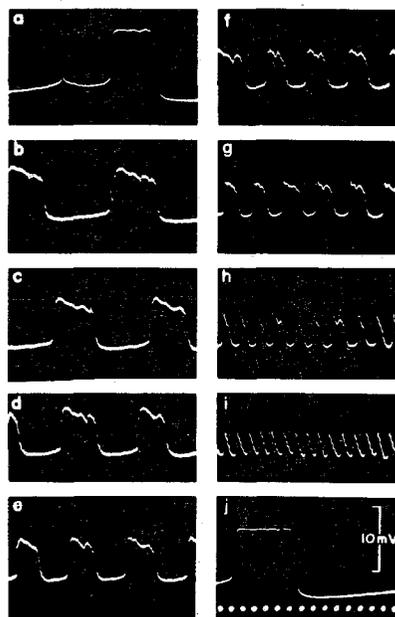
TEAを約45mM含んだりリングル中での通電による変化を中央列に示した。この場合まづ対照では明かにOAPの増大がみられた(最上記録)。正常リングル中では通電後のOAPの高さは80%以上回復するに反して、TEAを含んだ溶液中では、通電後OAPの高さは、通電前の50%に減っている(中央最下記録)。このことは恐らく、TEAが加重的効果の他に、時間の経過につれ、細胞外液中のTEA濃度の増加により、ある濃度以上で脱分極作用のある可能性を示している。後に述べるようにアセチリコリンの場合にもみられた<sup>26</sup>)。

図の右列は、再び外液を正常リングルにおきかえた後の直流通電効果である。右列1番目の図の、OAPの高さは、中央列最下段のOAPの高さより増大しているが、中央列最上位の記録のそれよりも小さくなっている。しかし下降期の著明な延長がみられる。TEAで処置して得られたOAPにたいする通電は、過分極電流の場合は正常リングル中のそれとあまり変わらないが、脱分極通電では特に下降期にたいする効果が正常のものとは異なっている。これを少し量的に推定するために、今静止時膜抵抗を $15M\Omega$ と仮定し、前の報告にのべたと同様の方法で(Fig. 13 in Kikuchi, et al. 1962<sup>27</sup>) OAPの peak と、光の on-sign から800msecの部位における下降期との2点での膜抵抗を、特に外向き通電の場合について大略推定すると、約45mMのTEA溶液中及びTEA処置後正常溶液中での、OAPの peakにおける膜抵抗は、正常溶液中の値よりは減少し、又下降期の前記時点での値は異ならないが幾分減少すると

いう結果を得た。この推定結果はTasaki & Hagiwara<sup>41</sup>)のall-or-nothing potentialに対するTEAの効果と相違している。

なおOAPに重疊するスパイクがTEAによつて変化し、それが各々持続時間や高さの大小不同のものがみられることについては、スパイクについてのTEAの効果の項でのべた。大小不同のスパイクの発生については、これが反復興奮を行なつた場合の不応期におけるスパイクの高さの変化と理解するか、あるいは発生部位が移動することによるかという点については、この実験からは弁別しがたい。

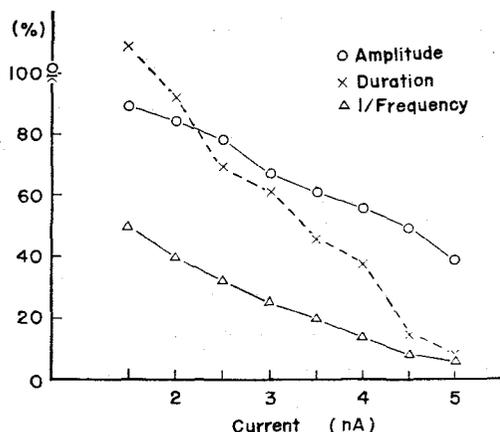
ii) 矩形波電位に対する直流通電効果。 第10図はTEAによつて生じた矩形波状電位に対す



第10図. TEAにより生じた矩形波状電位に対する外向き直流通電効果:

TEAによつて生じた矩形波状電位に、脱分極方向の通電。a; 対照。b-i; 各々 $1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5 \times 10^{-9}$ Aの脱分極方向の通電。

る通電の影響である。電極を通して陰極通電(脱分極方向)を行なつた。第10図aは対照である。第10図bからiまで次第に通電を強めてゆくと、頻度は増大するが、高さの減少と同時に持続時間の減少がみられる。これを第11図に示した。この

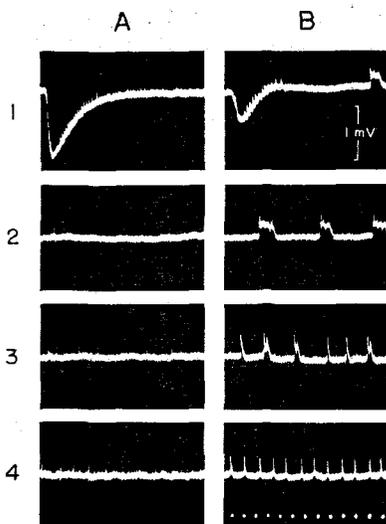


第11図. 矩形波状電位と直流通電との関係. 第10図の記録から得た.

ように矩形波状電位の頻度の増大と反比例して, 大きさ, 持続時間が減少する. この現象は心筋を外部から刺激して活動電位を発生させる場合の活動電位と, それを駆動する刺激頻度との関係に類似している (松田 星・龜山1956<sup>35</sup>): 高橋1959<sup>38</sup>).

第11図は, 第10図の記録を測定して得られた. 横軸が胞細内電極を通じて与えた外向き電流の強さで, 縦軸は, T E A で処置して生じた矩形波状電位の, 通電を行なわない場合の大きさ, 持続時間, および頻度の逆数をそれぞれ 100%として, これをプロットしたものである. 大きさは, 便宜上 peak to peak value を測定した. すなわち, 矩形波の最頂部から矩形波のあとに続く undershoot の底までの値をとった. 持続時間は, 大きさの, 下から30%の位置での値をとった. 第10, 11図でわかるように, 外向き通電により大きさと, 持続時間が減少し, 頻度が増大した.

iii) スパイク放電と, T E A イオンによつて生じた矩形波状電位との関係. T E A または T E A B で処置した場合におきる, スパイクに比して高さも持続時間も著明に増大した電位が, O A P と同じ形質膜の活動によるものか, あるいはスパイク電位の発生部位における形質膜の活動を確める意味で外部誘導を行なつた. Tomita (1956<sup>42</sup>) は既に内外同時誘導により, O A P は外部から誘導した場合には不関電極に対し負の, 内部から誘導した場合には正の反応を示す. すなわち, activeな



第12図. 正常スパイク電位および矩形波状電位と光刺激強度との関係:

A列; 正常リングル中の反応. B列; 20mM T E A を含むリングル中. 1, N D O で1秒照射の反応, 2, 3, 4は各々 N D 3, 2, 1 で連続照射中の記録.

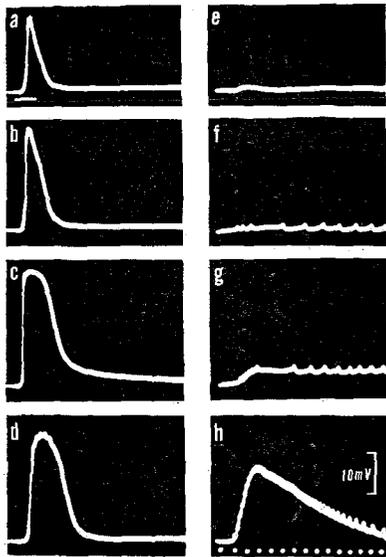
脱分極を示すが, 一方スパイク電位は内外のいずれの誘導でも同一の極性を示すことから, 細胞内誘導の場合, 電極刺入部の形質膜は O A P を発生することに関与し, スパイク電位は電極からある距離を隔てた恐らく視神経終末部の活動を記録しているものだと推論した.

以上の理由から, 正常リングル中および T E A を含む溶液中で, O A P とスパイクを外部から誘導し, 記録し矩形波状電位の性質を確めることにした.

第12図は T E A による活動電位の変化を外部電極を使つて誘導した記録である. A列1の記録は, 正常リングル中での一定強度の光による反応で, Tomita (1956) <sup>42</sup> が発表した内外同時誘導の記録と同様に, 負の O A P に正のスパイクが重畳している. A列2は光の強度を減光フィルター (Neutral density filter, Kodak) N D 3 を用いて, A列1の場合の1000分の1におとして連続照射中にえられた記録である. 若干のスパイクがみられる. A列3では減光フィルター N D 2 で, A列1の100分の1に減光した光で連続照射した. A列2に比してスパイク頻度が増している. 同様

にA列4は10分の1に減光による連続照射で、さらにスパイク頻度の増大がみられる。外液中にTEAを20mMの濃度で投与したのち、同様な実験を行なった(第12図B列)。B列1ではTEA処置後にOAPは増大していないが、光照射後に著明に延長した陽性の矩形波状電位がみられる。外部誘導で記録されたスパイクは、細胞内の記録と同じ方向に振れることから、TEAによつて現れる短形波状電位は、スパイクが変形したものだということを示している。B図の記録で2,3,4と刺激光強度を強めると、矩形波状電位の持続時間は減少し、頻度は増加している。刺激光強度が強いと、矩形波状電位の持続時間が短縮されるということは、TEAで処置して発生した矩形波状電位が、細胞内の外向き通電によつて持続時間が減少し、頻度が増大する事実とよく一致している(第10, 11図参照)。

これら外部誘導の実験、光照射による結果と後述する細胞内通電(第13図)を行なったときの結果とを比較すると、TEA処置後に現われる矩形



第13図. TEAB電極によるOAPの変形とOAPに対する無Na溶液の効果:

a; 正常リングル中でTEAB電極挿入直後のOAPの記録. b,c; TEAB電極挿入後4, 17分後. d,e, 外液をコリン・リングルにかえ37, 52分後. f,g,h; 正常リングルにかえ3, 4, 12分後の記録. 時標0.1秒.

波状電位はスパイクがTEAによつて延長したものであることがわかる。TEA処置後におけるOAPの減少については、一般にTEAを外部から投与した場合、矩形波状電位の出現は比較的確実に現われるが、OAPはしばしば増大ではなく逆に減少がみられ、外部からTEAを投与した場合も後記の細胞内投与の場合同様、ある条件のもとでOAP発生に与る形質膜に脱分極作用を示すのではなからうかと考えられる(考察参照)。

#### iv) tetraethylammonium イオンの細胞内注入

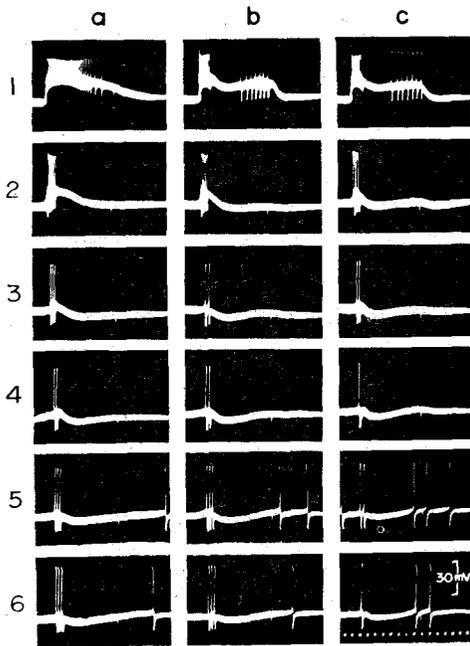
第13図は1MのTEABを満した電極を細胞に刺入して、この時の光照射による反応の変化を記録したものである。第13図aは電極刺入直後に記録したOAPで、bは刺入後4分、cは17分後の記録である。刺入後時間の経過に従つて、刺激光は同一照射強度および同一照射時間であるにも拘わらず、OAPの大きさ、上昇率、持続時間は増大し、下降期が延長している。dはその後ひきつづいて外液を無Na溶液にかえて37分後の記録であるが、OAPの大きさはcにおけるよりも幾分減少し、上昇率は下降して、持続時間はあまり減少していないが、下降期のあとに続く脱分極はむしろ短縮している。eは外液交換後52分の記録であり、はじめの記録よりOAPの大きさが著明に減少している。eを記録後、直ちに外液を再び正常リングルに戻した(第13図f)後3分目の記録がfである。OAPの大きさは増大していないが、下降期の延長がみられる。スパイクはわずかにOAPの上昇期と下降期にみられる。gはfの1分後の記録でOAPの大きさは増大し、下降期は延長している。hは再度外液を正常リングルにしてから12分後の記録で、OAPの大きさは略aのそれと同じまでに回復しているが、上昇率は幾分減少し、下降期は延長している。なお、スパイクが重疊しているのがみられる。しかし、無Na溶液にかえる前(第13図c)ほどには回復していない。この後OAPの大きさはcの60~70%までに達したが、さらに長時間記録をつづけたが完全な回復はみられなかつた。しかしこの条件においても、この後の通電実験によつてhの記録におけるOAPは、さらに過分極によつて増大、脱分

極電流により反転がみられ、あるいは光強度をかえると光強度の対数に比例してOAPが増減するなど、KCl電極で誘導された場合と同じような性質を示した。このよに一般にTEABを満たした電極で記録する場合、初期の記録から次第にOAPの大きさや、持続時間が増大するが外液中のNa<sup>+</sup>を減少させることによつて可逆的にOAPの大きさが減少するという事は、上に述べたようにOAPに対するTEAの加重作用にはNa<sup>+</sup>が必要であるということを示している。

さらに、TEAB電極を使つた場合に矩形波状電位は記録されなかつたが、しばしばスパイクの増大、あるいは自発性スパイク電位の出現、あるいは普通のスパイクよりやや持続時間の延長したスパイクを認めることができた。

#### d) Li<sup>+</sup> の影響

i) Li<sup>+</sup> のOAPに対する効果 Li<sup>+</sup> のOAPに対する効果を第14図に示した。図のa列、b列、c列は、光刺激から次の光刺激までの時間間隔が、



第14図. Li<sup>+</sup> のOAPに対する効果:

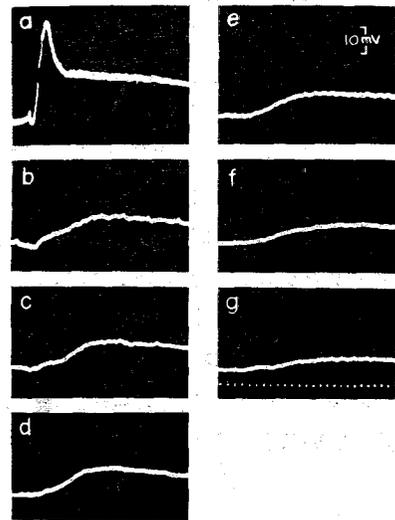
1; 正常リングル中でのOAPの記録. 2, 3, 4; Li<sup>+</sup>リングルにかえ4, 10, 24分後の記録. 5, 6; 再び正常リングルにかえ5, 11分後の記録. a,b,c はそれぞれ異つた暗順応(1分, 30秒, 15秒)後の記録. 時標 0.1秒.

それぞれ異つて(それぞれ1分, 30秒, 15秒)いる. 刺激光が強いと暗順応のながいほどOAPが大きい(Kikuchi & Tazawa, 1960<sup>29</sup>).

図の1行は正常リングル中での記録である. 記録後、標本外液をLi<sup>+</sup>リングルにかえて光刺激を与えると、OAPの大きさは次第に減少し、ついに殆んど消失した(第14図2, 3, 4). 3, 4ではOAPの後につづく陽性後電位がみられる. 再び正常リングルに戻すと、OAPの大きさは殆んど恢復しないが、陽性後電位がいくらか小さくなつた(第14図5, 6). また、OAPに重疊するスパイク放電の頻度が増した. 同様な他の実験においては、Li<sup>+</sup>リングル中で殆んど消失したOAPは正常リングルにもどして、若干の大きさを増したが、その回復は長時間観察してもたかだか初期正常リングル中の反応の25%にすぎなかつた.

以上の結果から、Li<sup>+</sup>はカプトガニの光受容器の場合、OAPの発生に関してNa<sup>+</sup>と同様な働きをしないといふことができる.

第15図は、標本外液を正常リングルからコリン・リングルにかえ、ついでLi<sup>+</sup>リングルにかえ

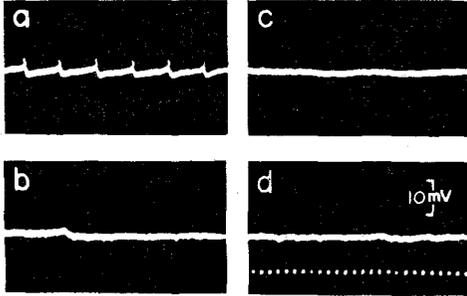


第15図. Li<sup>+</sup> のOAPに対する効果:

a; 正常リングル中でのOAPの記録. b,c; コリン・リングルにかえ15, 26分後の記録. d,e; Li<sup>+</sup>リングルにかえてからそれぞれ1, 9分後の記録. f,g; 再び正常リングルにかえてからそれぞれ1, 13分後の記録. 時標 0.1秒.

た実験の記録である。

第15図 a は正常リングル中での OAP の記録である。外液をコリン・リングルにかえると, b, c に



第16図.  $\text{Li}^+$  のスパイク電位に対する効果：  
a; 正常リングル中でのスパイク電位. b; コリン・リングルにかえて15分後のスパイク電位. c, d;  $\text{Li}$  リングルにかえ1, 9分後のスパイク電位. 記録は第15図と同一の実験から得られた. 時標 0.1秒.

みるごとく次第に OAP の高さが減少する。ここで外液を  $\text{Li}$ ・リングルにかえると, OAP の高さはさらに減少する (第15図 d, e). 再び正常リングルにもどすと, OAP の高さはさらに減少してこの例では回復がみられなかつた (第15図 f, g), すなわち, OAP の場合,  $\text{Li}^+$  は  $\text{Na}^+$  の作用を代行し得ないことが示された。

ii)  $\text{Li}^+$  のスパイクに対する効果 これを第17図に示した。第16図 a は正常リングル中で光刺激を与えない時にみられるスパイクである。外液をコリン・リングルにかえると, スパイクは消失した (第16図 b). これを  $\text{Li}$ ・リングルにかえてもスパイクは出現しなかつた (第16図 c, d).

スパイクの発生に関しても,  $\text{Li}^+$  は  $\text{Na}^+$  の作用を代行しないことがわかつた。

#### 考 察

tetraethylammonium イオンの効果について

T E A の活動電位に対する作用は, 種々の興奮性組織で調べられているが, すでに Lorente de N6<sup>33)</sup> は先に述べたように, ある脊椎動物の有髄神経線維では  $\text{Na}^+$  の代りをし得ることを示し

た。すなわち, 外液を充分  $\text{Na}^+$  をとり除いた溶液とし, 活動電流の消失をみて後これに T E A を与えると, 再び活動電流が発生することを報告している。

一方他の組織, たとえば甲殻類の筋線維<sup>6)</sup>においても T E A は塩化コリンと同様,  $\text{NaCl}$  の代りをしてしかも塩化コリンより著明に活動電位の高さ (1.5倍以上) と持続時間が増大する (正常リングル中の約30倍) ことが報告されている。なお, この場合に, T E A 同様第4級アンモニウム塩である tetrabutylammonium chloride (TBA) により活動電位は延長するが, このとき活動電位発生経過中における膜抵抗の変化の経過が違ふことも指摘されている。延長した活動電位の, 活動時における膜抵抗の変化は, 心筋の活動電位の経過中における膜抵抗の変化 (Weidmann, 1951<sup>46)</sup>) と非常に類似して, 延長した活動電位の 'plateau' 相末期から 'shoulder' にかけて, 膜抵抗が静止時より増大することも知られている (Fig. 15 in Fatt & Katz, 1953<sup>7)</sup>).

Tasaki & Hagiwara (1957)<sup>41)</sup> はイカの巨大神経線維において, 細胞内に注入した T E A の作用を詳細に調べて次のごとき結果を得ている。即ち細胞内に T E A を注入すると, 持続時間は室温で10~30倍にも達する。静止電位は変らない。これと甲殻類の筋の活動電位に対する効果と異なる点は, ①活動電位の高さは変化しないか, 5~10%減少する。② "undershoot" あるいは陽性相 (after-hyperpolarization) を伴う。③ T E A による活動電位の延長には, 外液に  $\text{Na}^+$  の存在が必要である。④外部から T E A を与えたのでは効果は現れない。以上4点である。T E A によつて10~30倍延長したヤリイカ巨大神経線維の活動電位も, 心筋や, 甲殻類の筋線維の場合と同様, 初期の peak の後に 'plateau' phase が続いており, plateau phase の後期から 'shoulder' にかけて明瞭に膜抵抗の増加があることが示された (Fig. 5, 6 in Tasaki & Hagiwara, 1957<sup>41)</sup>). な

おこの場合も、活動電位はちようど正常の心筋<sup>46)</sup>や有髄神経<sup>40)</sup>の活動電位における‘abolition’と同様の現象があり、plateau phaseの終りに近づくにしたがつて、より弱い過分極電流をかけることによつてこれが起されることが示された (Fig. 7 in Tasaki & Hagiwara, 1957<sup>41)</sup>). さらに voltage clamp 法を応用し、活動時の膜電流を測定して、Tasakiら<sup>39)</sup>のいう‘final current’.あるいはHodgkinら<sup>16)17)</sup>のいう‘potassium current’と呼ばれている膜を通しての外向電流が減少することが判明した。これらの事実を説明するために、Tasaki & Hagiwara<sup>41)</sup>はいわゆる‘sodium theory’に代る‘two stable state hypothesis’を提唱し、TEAによつて延長した活動電位は、その性質が脊椎動物の心筋の活動電位と非常に相似していることを強調している。このようにTEAの作用も標本によつて、ある点では非常に効果が異つているが、上に述べた本実験のOAPおよびスパイク電位へのTEAの作用を、他の標本と比べると類似した点と、異つた点のあることがわかつた。

今までOAPのような緩電位に対するTEAの作用を調べた報告はないが、OAPについて言えば、まずOAPはNa<sup>+</sup>の存在において、加重的効果をもつことがわかつた。この点は既に発表されているが、ストリキニン、およびアセチルコリン(Kikuchi, Naito & Minagawa, 1960<sup>26)</sup>)によつて、やはり加重的効果が現われていることと関連していると考えられる。ヤリイカ巨大神経線維に対するTEAの作用は、カエルまたはガマの運動神経に対するエメチン、プルレン、シノメニン、高張食塩溶液、ストリキニン、アザイドの作用と相似していることが指摘されている (Tasaki & Hagiwara, 1957<sup>41)</sup>). 特にアセチルコリンは、第4級アンモニウムに属するので、TEAと同じような機序によるものであらうと推定される。OAPに対するアセチルコリンの効果は、外部から投与した場合は、非常に不安定であることを述べたが<sup>26)</sup>、TEAの場合、特に正常リングル中に投

与した場合は、OAPに対する加重的効果の現われ方はスパイク電位の場合よりずっと不確実である。これに反し、TEAB電極を使用したときOAPの変化はずつと確実である。この理由は現在なお不明である。しかし、このことは少なくともOAPとスパイク電位の発生部位の異つているという主張 (Tomita, 1957<sup>43)</sup>) を支持している。

Ba<sup>++</sup>によつてもOAPの増大、延長がみられるが (菊地・皆川, 1960<sup>25)</sup>)この場合のOAPの延長はTEAの場合よりずっと著しく、静止時の膜抵抗も増加していることから、作用機序を同一と見做すことはできない。本実験では、OAPの経過中における膜抵抗の変化についてのきれいな記録を得ることに成功していないので、OAPの増大および延長と、膜抵抗との関係をはつきり言えないが、おそらく上述の甲殻類の筋やヤリイカの巨大線維において、TBAやTEAのために延長したスパイクの膜抵抗の変化と、いくぶん異なる経過をたどるだらうと考えられる。しかしOAP全体の持続時間が、スパイク電位のように著明に延長したことは今まで見られなかつた。なお静止時における膜抵抗については、ガマの筋線維やヤリイカの巨大神経線維の場合と同様、長い持続をもつた直流通電による電位変化から推定すると、著明な変化はなかつた。したがつて、活動時にTEAが何らかの特別な作用を発現することが推定される。

すでに巨大神経線維の場合は、活動電位の大きさは、外液中のNa<sup>+</sup>の対数に比例することが報告されているが (Hodgkin & Katz, 1949<sup>18)</sup>), 本実験では、外液中のTEAの濃度と、加重効果との関係は、明確に細胞のすぐ外部のTEAの濃度を推定しにくいから、求めることはできない。しかし正常リングル中に20mM程度のTEAを入れても、OAPとスパイク電位に加重効果が現われる例があることや (特にスパイク電位は著明)、TEAで増大したOAPの反転電位が現在まで得られた結果では、あまり変化している可能性が少

ないので、TEAが単に $\text{Na}^+$ の代りをすると考えよりも、たとえば、 $\text{Na}^+$ の運搬機構<sup>15)</sup>にTEAが働いて成りたつという考え方をすることもできる。

一方、OAPに重疊して記録されるスパイク電位は、誘導電極から離れた部位に発生したスパイク電位の電気緊張電位を記録したものであることが示されている(Tomita, 1957<sup>43)</sup>: Tomita et al, 1960<sup>44)</sup>: Fuortes, 1959<sup>10)</sup>). TEAの処置によつてスパイク電位が著明に増大し、場合によつては高さは3倍以上に達し、また持続時間も増大するという理由として、Attenuation factor—スパイク発生部位における活動電位の大きさと、電気緊張電位として誘導されたスパイクの大きさとの比—の変化に基くとも考えられる。これに影響し得るものは、原形質の抵抗と、膜抵抗である。さきに述べた通り、静止時の膜抵抗は殆んど変化していないし、原形質の抵抗の変化も考えられないので、Attenuation factorの減少することでは著明な高さの増大を説明できない。むしろ発生部位それ自体での活動電位の増大を考えなくてはならない。第11図の外部誘導の記録でも、TEAの処置により、スパイクの大きさと持続時間が増大しているが、この考えを支持するものであるといえよう。この点はOAP発生とスパイクの発生とに与る形質膜がTEAに対して異なつた影響をうけていることを示している。

これらの事実—少なくともTEAの作用には $\text{Na}^+$ の存在が必要であるということ、OAPばかりでなく、悉無律に従うスパイクまで、大きさの増大があることは、Na説(Sodium hypothesis, Hodgkin, 1951<sup>15)</sup>)によつて説明できない。

以上述べたごとく、個眼中のある細胞から誘導されるOAPと、スパイクに対するTEAの作用は、今まで報告された各種の興奮性組織に対するTEAの作用と、ある点で違つた様相を示していることがわかる。本実験で問題としている2種の活動電位の延長に $\text{Na}^+$ が存在することが必

要だという点は、ヤリイカ巨大神経線維(Tasaki & Hagiwara, 1957<sup>41)</sup>)、ガマの骨格筋(Hagiwara & Watanabe, 1955<sup>13)</sup>)の場合と同じである。一方活動電位の増大を引きおこす点は、甲殻類の筋に対するTEAの作用と類似している(Fatt & Katz, 1953<sup>7)</sup>)。OAPがTEAで延長した場合、これにoscillationを伴うことは観察されなかつたが、スパイクが延長したと考えられる矩形波状電位では、著明なoscillationを伴うことがしばしばあり、この点は、ヤリイカの巨大神経線維、あるいはガマの筋肉に対する場合と異り、甲殻類の筋に引きおこされた変化と相似している。oscillationの発生理由についてもなお不明である。スパイク電位については、①大きさの増大では甲殻類の筋に、②持続時間の延長では上記の興奮性組織の活動電位に対するtetrathylammoniumイオンの効果に、③undershoot(after-hyperpolarization)を伴う点ではヤリイカの巨大線維に類似している。第10図で示されたように、TEAで延長したスパイクは、外向き通電で頻度が増大し、持続時間が減少する。この現象については、一般に有髄神経や心筋において、活動電位が不応期に発生した場合、上昇率と持続時間が減少する事実と関聯して説明できる(Tasaki, 1953<sup>39)</sup>: 松田・星・龜山, 1956<sup>35)</sup>: 高橋, 1959<sup>38)</sup>)。正常溶液中における外向きの通電の場合、スパイクの大きさの減少、頻度の増大が示されているが(Tomita et al, 1960<sup>44)</sup>)、TEAで延長したと考えられるスパイクに対する外向き通電の効果は、この場合の観察と一致する。持続時間の減少については、上にあため神経や心筋の場合と同様に、相対不応期における活動電位の変化とみなすことができる。本実験の場合と同様ガマの筋肉にTEAを作用させて発生した延長した活動電位に長い外向き直流通電によつて反復興奮をおこした場合、スパイクの大きさの減少と、持続時間が減少することが報告されている(Hagiwara & Watanabe, 1955<sup>13)</sup>)。

Fuortes(1959)<sup>10)</sup>は、OAPの発生に関して次のような仮説を提出している。光照射によつ

て、光受容器より伝達物質が放出されて、これが eccentric cell に作用し、その形質膜の conductance の増加を引き起こすことによつて OAP が発生する。もしそのようなことがおこるとすれば、何らかの段階で伝達物質の増加がもたらされていることも相像されるが、OAP の延長やスパイクの増大、延長にて対しは、納得のゆく説明が見当らない。

以上、今までに報告された、各種興奮性組織に対する TEA の作用を、本実験結果と比較考察したが、かゝる TEA の特別な作用は今後さらに研究する必要がある。

#### Li<sup>+</sup> の効果について

ヤリイカの巨大神経線維や、ある種の神経線維では、Na<sup>+</sup> の動きは Li<sup>+</sup> によつて代行されることが報告されている。本実験結果では、OAP も、恐らくスパイクも、Li<sup>+</sup> によつて Na<sup>+</sup> の作用は代行できないと考えられる。一般に Li を作用させると、正常溶液にもどしても回復過程がわるいことが知られている (Gallego & Lorente de Nó, 1951<sup>12</sup>)。Li<sup>+</sup> は細胞外に排出されないのではないかとこの想定も可能である。本実験には市販の LiCl を用いたが、Cranefield & Hoffman (1959)<sup>3)</sup> の綜説によれば、NaCl を LiCl で置換した心筋の実験の結果はまちまちであるが、彼等は 27Eq/l の濃度で活動電位の短縮がおこるが、完全に置換した場合は 2~26 分後に心収縮は停止するという。市販の LiCl は純粋といつてもわずかのある種の稀土元素を含んでいて、これが細胞に毒性をもつのではなからうと述べている。現在までのところ、本実験で用いられた LiCl の詳細な分析を行なっていないので、この点について議論できない。

tetraethylammonium イオンの作用が調べられている組織で Li<sup>+</sup> の効果も調べられているのは、現在のところイカの巨大神経線維のみであるが、この二つの陽イオンについてだけでも同じ海産動物であつても、効果が異なることがわかつた。このような相異について根本的な説明を与えることは今後の問題である。

#### 要 約

1. 細胞内電極を用いて、日本産 カブトガニ (Tachypleus tridentatus) 側眼の単一個眼中より、光照射によつて現われる 2 種の活動電位 (ommatidial action potential とスパイク電位) に対する tetraethylammonium イオンおよび Li<sup>+</sup> の影響について調べ、次の結果を得た。

2. 正常リングルを無 Na 溶液にかえると、OAP は減少したが、その後 NaCl を等張の tetraethylammonium 塩 (TEA, TEAB) で置換した溶液で置換しても OAP の増大はみられなかつた。ついで正常リングル中にもどすと、初期正常リングル中におけるより、大きな延長した OAP が観察されることがあつた。

3. 正常リングル中に約 20mM 以上の tetraethylammonium イオンを添加すると、OAP の増大がみられた。

4. TEAB を満した高抵抗な微小電極で上記 2 種の活動電位を誘導すると、刺入後時間の経過と共に、その反応は次第に増大して、ほぼ一定の値に達したが、外液を無 Na 溶液にかえると、OAP はほぼ可逆的に減少した。

5. TEA 処置で増大延長した OAP の peak と下降期は外向き直流通電で処置前のものと異つた変化を示した。

6. TEA で処置すると、Na<sup>+</sup> の存在で著明な undershoot を伴う矩形波状の電位が現れた。これはスパイク電位に由来するものであることが細胞外誘導で示された。この電位は、正常溶液中のそれに比べて大きさは約 3 倍、持続時間は約 10 倍以上に達した。

7. 矩形波状電位は外向き通電により、大きさと持続時間の減少、頻度の増大がみられた。

8. 上記正常溶液中の 2 種の活動電位に対する Na<sup>+</sup> の作用は、Li<sup>+</sup> によつて代行されなかつた。

9. 以上の結果を他の興奮性組織に対する tetraethylammonium イオン、Li<sup>+</sup> の作用と比較考察を試みた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲をいただいた菊地録二教授に感謝する。

(本論文の一部は、第35回日本生理学会總會 (1958) において発表した。)

参考文献

- 1) **Burke, W., Katz, B. & Machne, X.:** The effect of quaternary ammonium ions on crustacean nerve fibres. *J Physiol* **122** 588 (1953)
- 2) **Burnstock, G. & Straub, R.W.:** A method for studying the effects of ions and drugs on the resting and action potentials in smooth muscle with external electrodes. *J Physiol.* **140** 156 (1958)
- 3) **Cranefield, P.F. & Hoffman, B.F.:** Electrophysiology of single cardiac cells. *Physiol Rev* **38** 41 (1958)
- 4) **Draper, M.H. & Weidmann, S.:** Cardiac resting and action potentials recorded with an intracellular electrode. *J Physiol* **115** 74 (1951)
- 5) **Erlanger, J. & Blair, E.A.:** The action of isotonic, salt-free solutions on conduction in medullated nerve fibres. *Amer J Physiol* **124** 341 (1938)
- 6) **Fatt, P. & Katz, B.:** Conduction of impulses in crustacean muscle fibres. *J Physiol.* **115** 45p (1951)
- 7) **Fatt, P. & Katz, B.:** The electrical properties of crustacean muscle fibres. *J Physiol* **120** 171 (1953)
- 8) **Feng, T.P. & Liu, Y.M.:** The connective tissue sheath of nerve as an effective diffusion barrier. *J Cell Comp Physiol* **34** 1 (1949)
- 9) **Fuortes, M.F.G.:** Electrical activity of cells in the eye of *Limulus*. *Amer J Ophthalmol* **46** (5, Pt. 2) 210 (1958)
- 10) **Fuortes, M.F.G.:** Initiation of impulses in visual cells of *Limulus*. *J Physiol* **148** 14 (1959)
- 11) **Gallego, A. & Lorente de Nó, R.:** On the effect of several monovalent ions upon frog nerve. *J Cell Comp Physiol* **29** 189 (1947)
- 12) **Gallego, A. & Lorente de Nó, R.:** On the effect of ammonium and lithium ions upon frog nerve deprived of sodium. *J Gen Physiol* **35** 227 (1951)
- 13) **Hagiwara, S. & Watanabe, A.:** The effect of tetraethylammonium chloride on the muscle membrane examined with an intracellular microelectrode. *J Physiol* **129** 513 (1955)
- 14) **Hartline, H.K., Wagner, H.G. & MacNichol, E.F. Jr.:** The peripheral origin of nervous activity in the visual system. *Cold Spr Harb Symp quant Biol* **17** 125 (1952)
- 15) **Hodgkin, A.L.:** The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. *Biol Rev* **26** 339 (1951)
- 16) **Hodgkin, A.L. & Huxley, A.F.:** Current carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J Physiol* **116** 449 (1952)
- 17) **Hodgkin, A.L. & Huxley, A.F.:** A quantitative description of membrane current and its application and excitation in nerve. *J Physiol* **117** 500 (1952)
- 18) **Hodgkin, A.L. & Katz, B.:** The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J Physiol* **108** 37 (1949)
- 19) **Huxley, A.F. & Stämpfli, R.:** Effect of potassium and sodium on resting and action potentials of single myelinated nerve fibres. *J Physiol* **112** 496 (1951)
- 20) 飯沼守夫・保倉進・館澄江・菊地隼二: カプトガニ (*Tachypleus tridentatus* Leach) の側眼構造について, 東京女子医科大学学会第29回總會. (1963)
- 21) **Kato, G.:** On the excitation, conduction and narcotisation of single nerve fibres. *Cold Spr Harb Symp quant Biol* **4** 202 (1936)
- 22) **Katz, B.:** The effect of electrolyte deficiency on the rate of conduction in a single nerve fibre. *J Physiol* **106** 411 (1947)
- 23) **Keynes, R.D.:** The ionic movements during nervous activity. *J Physiol* **114** 119 (1951)
- 24) 菊地隼二: generator potential の發生に對する陰イオンの役割. *日本生理誌*, **24** 336 (1962)
- 25) 菊地隼二・皆川幸子: 光受容器活動電位に對する Ba イオンの影響. *日本生理誌* **23** 498 (1961)
- 26) **Kikuchi, R., Naito, K. & Minagawa, S.:** Summative action of acetylcholine with physiological stimulus on the generator potential in the lateral eye of the horseshoe crab. *Nature* **187** 1118 (1960)
- 27) **Kikuchi, R., Naito, K. & Tanaka, I.:** Effect of sodium and potassium ions on the electrical activity of single cells in the lateral eye of the horseshoe crab. *J Physiol* **161** 319 (1962)
- 28) **Kikuchi, R. & Tanaka, I.:** Physiological saline solution for the horseshoe crab. *Annot Zool Japan* **30** 177 (1957)
- 29) **Kikuchi, R. & Tazawa, M.:** Effect of intensity, duration and interval of stimulus

- on retinal slow potentials. In *Electrical Activity of Single Cells*. 25 Tokyo: Igakushoin (1960)
- 30) **Koketsu, K. Nishi, S.:** Restoration of neuromuscular transmission in sodium-free hydrazinium solution. *J Physiol* 147 239 (1959)
- 31) **Larramendi, L.M.H., Lorente de Nó, R. & Vidal, F.:** Restoration of sodium deficient frog nerve fibres by an isotonic solution of guanidinium chloride. *Nature* 178 316 (1956)
- 32) **Lorente de Nó, R.:** A study of nerve physiology, vols. 1 and 2, in *Studies from the Rockefeller Institute for Medical Research*, vols. 131 and 132 New York (1947)
- 33) **Lorente de Nó, R.:** On the effect of certain quaternary ammonium ions upon frog nerve. *J Cell Comp Physiol* 33 Supp. 1 (1949)
- 34) **Lorente de Nó, R.:** On the existence of a gradient of sensitivity to the lack of sodium in the spinal roots of the bullfrog. *J Gen Physiol* 35 183 (1951)
- 35) 松田幸次郎・星 猛・亀山重徳：哺乳動物心室筋の細胞電位。生体の科学 7 379 (1956)
- 36) **Overton, E.:** Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. *Pflüg Arch ges Physiol* 92 346 (1902)
- 37) **Stechner, P.G.:** The Merck Index of Chemicals and Drugs. Merck & Co. Inc. Rahway, N.J. (1960)
- 38) 高橋善夫：単一有髄神経線維の動作流の持続時間の延長した状態に関する2, 3の性質。日本生理誌 21 1113 (1959)
- 39) **Tasaki, I.:** *Nervous transmission*. Charles C Thomas, Publisher, Springfield, Illinois. (1953)
- 40) **Tasaki, I.:** Initiation and abolition of the action potential of a single node of Ranvier. *J Gen Physiol* 39 377 (1956)
- 41) **Tasaki, I. & Hagiwara, S.:** Demonstration of two stable potential states in the squid giant axon under tetraethylammonium chloride. *J Gen Physiol* 40 859 (1957)
- 42) **Tomita, T.:** The nature of action potentials in the lateral eye of the horseshoe crab as revealed by simultaneous intra- and extracellular recording. *Jap J Physiol* 6 327 (1956)
- 43) **Tomita, T.:** Peripheral mechanism of nervous activity in the lateral eye of horseshoe crab. *J Neurophysiol* 20 245 (1957)
- 44) **Tomita, T., Kikuchi, R. & Tanaka, I.:** Excitation and inhibition in lateral eye of horseshoe crab. In *Electrical Activity of Single Cells*, 11 Tokyo: Igakushoin (1960)
- 45) **Webb, D. A. & Young, J.Z.:** Electrolyte content and action potential of the giant nerve fibres of *Loligo*. *J Physiol* 98 299 (1940)
- 46) **Weidmann, S.:** Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle. *J Physiol* 115 227 (1951)