

光受容器の活動電位に対する温度効果

東京女子医科大学生理学教室(主任 菊地鎌二教授)

渋谷 幸子
シブヤ サチコ

(受付 昭和40年2月5日)

I 緒言

温血動物の種々の生物学的過程に対する温度効果は、多くの著者によつて報告されているが、生理学的条件では常に体温が一定であると見なすことができるから、それらに対する温度の影響は實際上問題とはならない。しかし冷血動物では、外界の温度変化はその活動性を支配する重要な因子の一つであろう。

興奮性組織の活動電位に対する温度効果は、19-10年頃から多くの研究者により報告され、特に神経のそれに対しては Lucas (1908)²⁸⁾によつてはじめて報告された。それ以来数多くの報告があるが、同種の実験材料を使つても活動電位に及ぼす温度効果が違い、いまだに議論されている (Hodgkin & Katz, 1949¹³⁾; Tasaki & Spyropoulos, 1959³⁰⁾).

さて、種々の感覚受容器においては適刺激を与えると time course の長い、緩やかな受容器電位が発生することが知られている。近年多くの研究者が微小電極を用い、それらの性質について報告している。

受容器電位に対する温度効果は、いくつかの感覚器について報告されているが、感覚器の種類によつてその効果が幾分異つていたことがわかつた (Hecht, 1919¹²⁾; Fry, Wulff & Brust, 1955⁷⁾; Wulff, 1957³⁷⁾; Burkhardt, 1959²⁾; Stieve, 1960²⁹⁾; Inman & Peruzzi, 1961¹⁶⁾; Ishiko & Loewenstein, 1961¹⁷⁾). Burkhardt²⁾ はザリガニ

の張力受容器では温度を下げると受容器電位の大きさがわずかながら増加するという。また Inman & Peruzzi¹⁶⁾ は猫の腸間膜のパチニー小体から誘導される圧受容器電位において、温度を下げると受容器電位は減少すると報告し、張力受容器とは異つた結果を示している。他方、化学受容器の一つと見なすことができる終板に発生する非伝導性の終板電位についても、Takeuchi²⁹⁾ により温度効果が報告されている。終板電位では温度を下げるとその大きさが小さくなり、この現象は伝達物質の放出が温度に依存することによるのだろうと述べている。

著者らの研究室では、日本産カブトガニ (*Tachypleus tridentatus*) の側眼から光照射により誘導される緩電位について、細胞内微小電極法を用いて研究が進められている。この緩電位は Hartline, Wagner & MacNichol (1952)¹¹⁾ らによつて ommatidial action potential (以後 OAP と略して記することにする) と呼ばれている。

既に報告されているように、OAP はパチニー小体や、ザリガニの張力受容器からの generator potential と多くの類似点を持ち合わせている (Kikuchi & Tazawa, 1960²³⁾). すなわち光刺激により悉無律に従わない graded の反応を示したり、パチニー小体でいわれる “refractoriness” を示したりする。また一方、OAP はある興奮性組織の悉無律にしたがう活動電位と共通な性質を示す点もみられる。例えば、頻発するものではな

Sachiko SHIBUYA (Department of Physiology, Tokyo Women's Medical College): Effect of temperature on the action potentials of a photoreceptor.

いが overshoot がみられたり (Fuortes, 1959⁸⁾, ; Kikuchi & Tazawa, 1960²³⁾; Benolken 1960¹⁾), また時に陽性後電位があつたり (Benolken, 1960¹⁾; Kikuchi & Tazawa, 1960²³⁾), 外液の Na イオン, K イオンの濃度を变化させると影響をうけたり (Kikuchi, Naito & Tanaka, 1962²⁴⁾), Ba イオンを与えると他の伝導性スパイクと同じようにその time course が延長することが観察されている (Kikuchi & Minagawa, 1961¹⁹⁾).

今回 OAP と呼ばれる緩電位の性質を更に明らかにする目的をもって温度効果を研究し, 他の緩電位や, 伝導性活動電位との性質の同異を考究するために本実験を企てたのでここに報告する.

研究結果の一部はすでに報告されている (Kikuchi, Naito & Minagawa, 1961²⁰⁾).

II. 実験方法

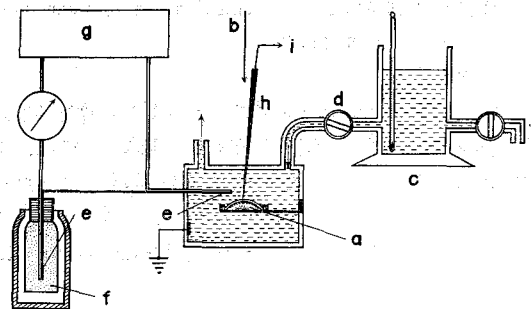
1. 実験材料および標本作製

実験材料に日本産カブトガニ (*Tachypleus tridentatus*) の側眼を用いた. 実験に際し, まずカブトガニ側眼を剔出し, 角膜に垂直に鋭利なカミソリ刃で切断し, 海水を満たした小さなポリスチロール容器中に断面を上にして固定した. 実体顕微鏡の下で褐色の個眼 (ommatidia) が角膜に沿って配列しているのがみられる. この個眼中の細胞群に, 細胞内微小電極を刺入し, その電氣的活動を誘導記録した.

2. 外液およびその温度調節

海産動物の血液中のイオン組成はその棲息する海水のそれに近いことが知られている (Kikuchi & Tanaka, 1957²²⁾). 今回の実験では, 誘導する電氣的活動の温度変化による影響のみを扱うので, 外液中のイオン組成を替える必要がないため, 外洋海水を濾過して使用した. この外洋海水を使用した時の個眼の電氣的活動と, カブトガニ血液およびカブトガニ用リングル (Kikuchi & Tanaka, 1957²²⁾) を使用した時のものとの差は認められなかつた. 海水はなるべく新鮮なものをを用い, 使用時には酸素ガスを約 5 分間通気した.

液温を降下させる際は剔出標本を固定してある容器内を, 低温にした海水で灌流した (第 1 図). また海水貯水槽のコックの調節により灌流量を増減して, 温度降下の速度を変化させた. 容器内の液面の高さは常に一定となるよう調節した. 外液の温度の測定は, 標本から 1~2 mm はなれたところに固形パラフィン被膜で覆った熱電対の一方をおき, 他方を魔法瓶内の細水中に入れた流動パ



第 1 図 実験装置

a: 剔出したカブトガニ側眼. b: 光刺激. c: 冷却海水を満たしたタンク. d: 灌流量調節用コック. e: 液温測定用熱電対. 標本に近接して一方を, 他方を細水中 (f) に固定. g: ポテンシオメーター. h: 微小電極. i: 入力管グリッド.

ラフィンを満たした細いガラス管内におき, 補償法により行なつた (Burton, 1948⁴⁾).

室温に放置した状態から徐々に外液の温度を下げてゆき, 一定の間隔で光照射をあてて得られる電位変化を誘導記録した. 通常 7°C 付近まで下げて記録したあと灌流を止め, 漸次室温まで上昇させることを 1 回の温度変化として, 下降, 上昇時の各温度について照射に対する反応を記録した. 普通, 液温を 1 分間約 0.5°C の割合で下げ, 約 1°C の割合で暖めた. しかし 20°C~23°C の室温に速やかにもどすために, 温かい空気を送ることが必要な場合もあつた. このような温度変化の往復に約 45 分要した. 液温を約 7°C~23°C の間を変化させたのは, この範囲をこえると光に対する電氣的反応がしばしば不可逆になり, この場合減少した反応が温度の効果によるものか, あるいは電極刺入の傷害による脱分極によるものか決めるのは困難であつたが, 同一標本で温度変化を一往復以上行なつても反応の大きさに変化が少ないものもあつた.

3. 誘導電極および電極刺入法

Ling and Gerard (1949²⁴⁾) の原法による細胞内微小電極を使用した. ガラス毛细管ピペットに 3 M KCl を煮沸法によつて満たし, 3 M KCl 中で 50 サイクルの交流ブリッジを用いて電極抵抗を測定し, 20~30 MΩ のものを選び実験に供した.

この電極をマニプレーターに固定して, 実体顕微鏡下でマニプレーターを操作して標本の断面から単一 ommatidium に電極を刺入し, 不関電極には Ag-AgCl を用い, 標本の入っているポリスチロール容器の外液中に固定した. 細胞に電極が入つたことは, 電極をすすめている間に電位が負へ突然移動すること (静止電位)

と、後述の光刺激に応じた陽性電位すなわち OAP がみられることにより推定した。

4. 光刺激

光源はタングステンランプで、その光を細隙を通し、更にレンズで集光して側眼の角膜面に垂直にあてた。誘導電極の刺入してある部位に光が比較的限局してあたるようにした。光の強さはレンズを用いてスリット上に光源像をむすばせ、そこにおいた Kodak の neutral density filter によって調節した。

光刺激の時期、持続時間については、オッシロスコープのビームの掃引と同期して、relay circuit を介して magnetic shutter を働かせ、任意の時点で任意の時間だけ、スリットから光が与えられるようにした。

本実験では光刺激時点、時間、強さを一定にした。刺激間隔によって生ずる OAP の “refractoriness” あるいは “depression” (Kikuchi & Tazawa, 1960²³) は温度により変化するので、この depression を少なくすることと、下降期の温度変化をみるために比較的低エネルギーの短い光刺激、すなわち、フラッシュ刺激を用いた。その強さは低温において測定可能な反応が得られる程度の弱いものとした。このフラッシュ刺激により、高温においてもその照射により一過性の単純な脱分極 (dynamic phase のみの OAP) を得ることによって下降期の計測が可能であった。ただし OAP の static phase に対する変化をみるために、ある例では長い光刺激を用いた。

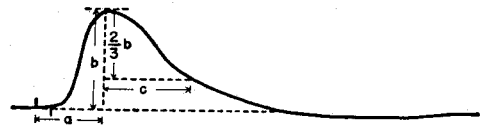
5. 誘導記録方法

上述の光刺激によって得られる OAP とスパイク電位を細胞内微小電極を用い、入力インピーダンスの高い前置増巾器中の入力管 (12AU7) のグリッドに導いた。ここから cathode follower で出力を導き、直流主増巾器を通してブラウン管オッシロスコープに導いた。オッシロスコープ前面に設置したカメラで増巾した電位変化を記録した。

6. 実験記録処理方法

実験は11月より翌年6月にわたって施行した。11月～4月の実験例では温度上昇時の温度変化にともなう反応が可逆的なものが多かった(考察参照)。その内で特に温度変化1往復した後もはじめの反応の大きさの80%以上を示したものを選び、記録の整理を行なった。

OAP およびスパイク電位について詳細に検討を加えるために、各々の記録を拡大してトレースし、各種の計測を行なった(第2図)。すなわち、1) OAP の高さ。2) 上昇期—onサインからピークまでの期間。OAP の立ち上りの基点が不明瞭なので、潜時がほぼ一定であるとみ



第2図 OAPの計測方法

a: 上昇期. 光刺激の on サイン (上向きビップ) からピークまで. b: OAP の高さ. c: 下降期. OAP の高さがピークから $1/3$ になるまで. 上昇率 $=b/a$. 下降率 $=2/3 \cdot b/c$.

なしてonサインを基準にした。3) 下降期—ピークから高さ $1/3$ に減少するまでの期間。OAP は条件により陽性後電位がつづいたりスパイク電位があらわれたりするため下降期の正確な測定が困難なので、上記の如く決めた。

4) 上昇率—OAP の高さ/上昇期間。5) 下降率—OAP の高さの $2/3$ /下降期間、等である(第2図参照)。

標本により同一温度でも OAP の大きさが異なるので、これらの計測値を総括するために、各標本の各成分について、 15°C における値を100とし、百分率であらわすことにした。

なお標本を選び、高温において自発性放電の殆んどないものに限つたが、このような標本でもしばしば温度が 10°C 以下になると自発性放電が可逆的に出現した。これらの自発性放電の記録から、スパイク電位についても、その高さ、持続時間を同じように求めた。

計測値を温度に対して対数目盛上にそれぞれプロットした。回帰方程式と相関係数を digital computer (Facom-128B) を使って求めた (Burn, Finney & Goodwin, 1950³¹) (第1表)。

また他の興奮性組織の電気的活動に対する温度効果と OAP のそれとを比較するために半対数グラフ上にプロットした点をほぼ直線に乗るとみなし、各要素の温度

第1表 OAP各部分の回帰方程式

		log Y	X
高さ (A)	log Aa*	$=1.67 - 0.048t$	2.38 4.05
	log Ab	$=1.60 - 0.062t$	3.39 4.22
上昇期 (DR)	log DRa	$=2.17 - 0.035t$	1.48 3.49
	log DRb	$=2.20 - 0.040t$	1.73 4.02
下降期 (DF)	log DFa	$=2.16 - 0.024t$	1.48 3.39
	log DFb	$=2.22 - 0.042t$	2.04 4.06
上昇率 (R.R)	log RRa	$=1.53 - 0.083t$	4.15 3.94
	log RRb	$=1.38 - 0.105t$	4.49 4.03
下降率 (R.F)	log RFa	$=1.55 - 0.073t$	3.56 4.05
	log RFb	$=1.25 - 0.100t$	4.50 4.20

*: a と b は照射間隔60秒と15秒をそれぞれ示す。

t: 温度, log Y: 標準偏差, X: 温度 t の標準偏差。

第2表 OAPの各部分の温度係数と相関係数

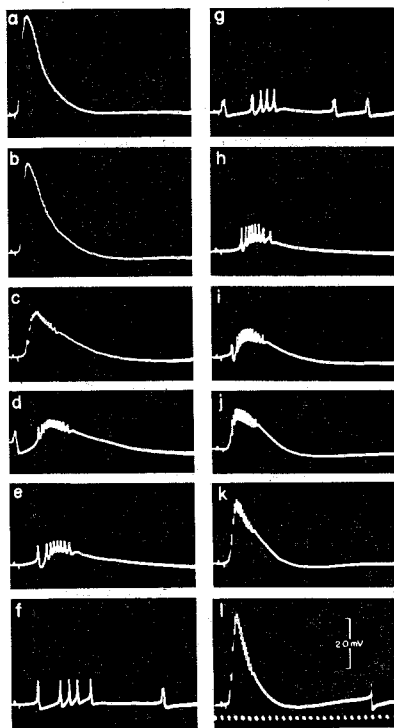
	係数の符号	Q_{10}	相関係数	
高さ	*a	+	3.03	0.83
	b	+	4.09	0.78
上昇期	a	-	2.23	0.94
	b	-	2.52	0.95
下降期	a	-	1.75	0.65
	b	-	2.61	0.83
上昇率	a	+	6.82	0.79
	b	+	11.20	0.94
下降率	a	+	5.83	0.83
	b	+	9.99	0.93

* : a と b は照射間隔60秒と15秒をそれぞれ示す。

係数 (= Q_{10}) を求めた (第2表)。

III. 結果

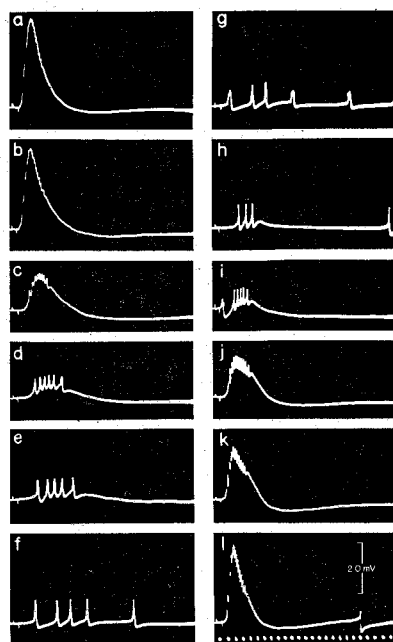
同一標本から得られた2系列の実験記録を第



第3図 温度変化に応じて変化するOAPおよびスパイク電位 (その1)

——照射間隔60秒——

a→f: 温度を下げていった時の記録. g→l: 温度上昇するにつれての記録. 光刺激: 上下のピップが on — off のサイン. 時標: 0.1秒. 各記録時の温度は a: 20.0, b: 18.1, c: 14.2, d: 11.2, e: 9.2, f: 6.9, g: 8.9, h: 12.0, i: 14.7, j: 17.4, k: 19.2, l: 20.0 (°C).



第4図 温度変化に応じて変化するOAPおよびスパイク電位 (その2)

——照射間隔15秒——

第3図の対応する反応の高さおよびスパイク数の差に注意。

3, 4 図に示した. これらはそれぞれ照射間隔が60秒, 15秒の2系列である. 温度を変えてゆく間, 連続的にフラッシュ刺激に応ずる反応, すなわちOAP とそれに重畳するスパイク放電の温度による変化を示したものである. 図に示されているように, 液温を上下することで反応に変化がみられた. 高温では OAP の型は急峻な立ち上りと鋭いピークを示し, しばしば明瞭な陽性後電位をともなつた (第3, 4 図 a, b). この OAP には同時に, 光照射または直流通電による強い脱分極の際にみられるような (Tomita, Kikuchi & Tanaka, 1960³²) 多数の小さいスパイク放電が重畳していた. 温度が低くなると, OAP の立ち上りは緩やかで, そのピークは丸みをもち, 下降期は延長した. 陽性後電位の大きさは小さくなり, 殆んど消失するに至つた (第3, 4 図 f, g). それに重畳するスパイク放電は, 各々のスパイクの高さと持続時間を増し, その数は OAP が小さくなつたことにより顕著に減少した (第3, 4 図 f, g). 第15図はスパイク電位の温度効果をみるため, 非常に弱

い光刺激を与えて温度を変化させて記録したものである(後述)。

液温を一度降下させてから再び上昇させてゆくと、温度降下の場合と逆の変化が OAP とスパイク電位の両方にみられたが、各成分の値は下降の場合に得られた値よりも幾分小さい値を示した。

“depression” とは具体的には、同一刺激でおこる OAP が前回の OAP よりも高さ上昇率が減少することを意味する(Kikuchi & Tazawa, 1960²⁰⁾). この定義による depression は種々の温度において照射間隔の相違によつてみられた。すなわち照射間隔60秒の反応よりも15秒の反応が小であつた。照射間隔による depression の外に、刺激の強さによつても depression が影響されることは報告されている²³⁾。

第3, 4図 f, g には2種類のスパイク放電が生じているのがみられる(Tomita, Kikuchi & Tanaka, 1960²⁰⁾). 高温ではあたかも1本の神経線維から発しているように見えるけれど低温になると OAP が小さくなるためにこれによる神経の脱分極も小さくゆつくりとなる。その結果二つのスパイクの不完全な融合がおこるために2種類のスパイクが分離してみられると理解される。

これに関連して、カプトガ=側眼の構造についてふれるが、アメリカ産カプトガ(*Limulus polyphemus*)の側眼の構造はすでに述べられており(Watase, 1890²⁴⁾; Hartline, Wagner & MacNichol, 1952¹¹⁾; Waterman & Wiersma, 1954²⁵⁾) 側眼中の各個眼は、1個稀れに2個の eccentric cell と呼ばれる細胞と、それをとりまく10~20個の retinula cell と呼ばれる細胞とから成つている。日本産カプトガの側眼の基本構造は *Limulus* のそれと極めて類似しているがいくつかの相違点も明らかになった。すなわち、個眼数はずつと少なく、個眼中の retinula cell の数も通常6~10個であつた。また神経突起の distal process がたがいに融合している双子の eccentric cell がみられることも稀ではないことがわかつた(飯沼・保倉・館・菊地 1963¹⁵⁾)。最近菊地・植木の電極刺入部位の組織学的検索で double-discharge が retinula cell より誘導される時は、1個の ommatidium 中に2個の eccentric cell がみられることが明らかになった(=ニューログリア班班会議にて報告, 1964年12月)。

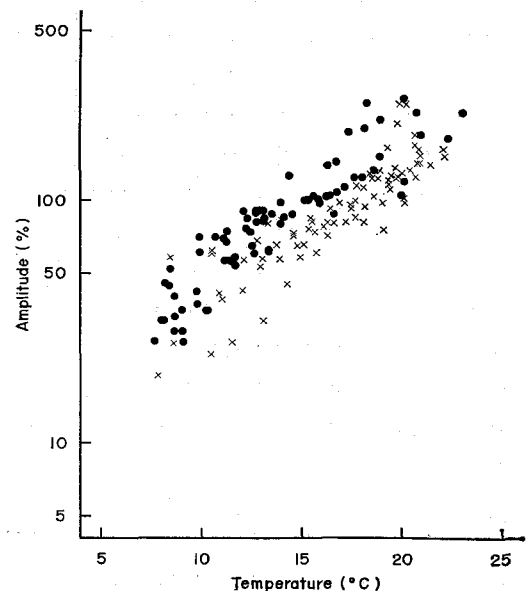
1. OAP に対する温度効果

a) OAP の高さ

液温を下げゆくと OAP の高さは徐々に減少し、再び液温を上げてゆくとまた増大する。第3図は約20°Cから7°Cまで下げ、後室温に放置して次第に液温上昇する経過中の活動電位の記録である。

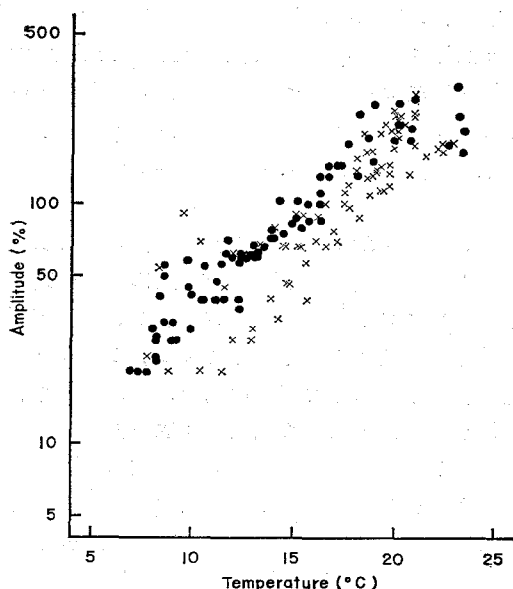
OAP は神経や筋の活動電位と異り、悉無律に従わない、光刺激によつてのみ出現する活動電位で、刺激の強さによりその大きさが変化するものであるが、刺激を一定にして温度を変化させることによつても graded の変化を示した。本実験の温度範囲では変化の傾向は可逆的であつた。

温度変化による OAP の高さの増減は、次の二つの理由から静止時膜電位の増減によるものでないといえよう。すなわち、1)もし静止時膜電位が Nernst の式にしたがうのであつたら、この冷却による OAP の高さの減少はあまりにも大きい。2)反応を記録した後、その電極を引きぬく時に推定される静止電位、この静止電位の値と、200 MΩ の高抵抗を通して入力を接地した時の電位変



第5図 OAPの高さと温度との関係

OAPの高さを15°Cの時の値を100として百分率で対数目盛にプロットしたもの。黒点: 温度を下げていった時。×点: 温度を上げていった時の反応の値。照射間隔: 60秒。



第6図 OAPの高さと温度との関係
第5図と同様にして求めたグラフ。ただし照射間
隔：15秒。

化の差によつて推定した静止電位は、それほど温度による影響をうけていると思われぬ。

第5、6図はOAPの高さの対数を温度に対してプロットしたものである。黒点は温度を下げてゆく時、×点は温度を上げてゆく時のOAPの高さを示す。往復とも同じ傾向を示しているが、同一温度のところ、冷却してゆく時の値が再び暖めてゆく時の反応の値よりも一般に大であつた。このことは記録する時より1段階前の温度の影響を受けていると考えられる。換言すればこの両者の値の差は、光化学反応が関与する視細胞が温度変化にともない新しい代謝の状態に到達するのに時間がかかり、それ以外に、反応の記録と温度測定との間に時間のずれがあることとで説明されよう。

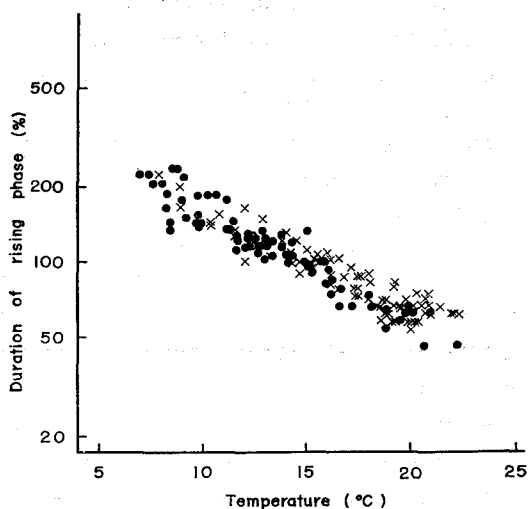
このグラフにみられるように、温度とOAPの高さの対数との間にはほぼ直線関係を示すので、回歸方程式、温度係数を求めた(第1、2表)。それによると照射間隔が短い方がOAPの温度効果が大きであつた。換言すれば、OAPの“depression”の効果が温度にも依存していることになる。この

温度効果と照射間隔との関係は、OAPのどの要素にもみられる共通の現象である。この事実はパチニー小体にみられる受容器電位で観察された“refractoriness”と関連していると考えられる。

OAPの高さの Q_{10} は、パチニー小体(1.44~2.28, Inman & Peruzzi, 1961¹⁶⁾；2.0 Ishiko & Loewenstein, 1961¹⁷⁾やカニの眼(0.44~1.7, Stieve, 1960²⁸⁾の緩電位の高さ、および神経や筋線維(Tasaki & Spyropoulos, 1957³⁰⁾の伝導性活動電位の高さなどの Q_{10} の、どの値よりもはるかに大きい値を示した。

b) OAPの上昇期

上昇期は光照射のonサインからOAPのピークまでとした。この部分も第7図にみられるように温度効果大であつた。 Q_{10} はOAPの高さのそれとは符号を異にし、負を示し2.37であつた。こ

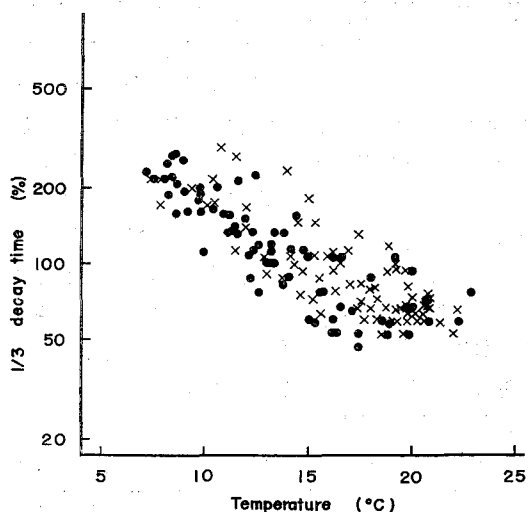


第7図 OAPの上昇期の持続時間と温度との関係

の値はやはり、パチニー小体やカニの網膜からの緩電位のそれより大であつた。むしろ哺乳動物の知覚神経のスパイク電位(Inman & Peruzzi, 1961¹⁶⁾)や、ヤリイカ巨大神経のスパイク電位(Hodgkin & Katz, 1949¹³⁾)の低温における値と近似していた。

c) OAPの下降期

OAPの下降期の期間を正確に測定することは、前述の通り困難であるので、OAPの最大の



第8図 OAPの $1/3$ decay time と温度との関係。

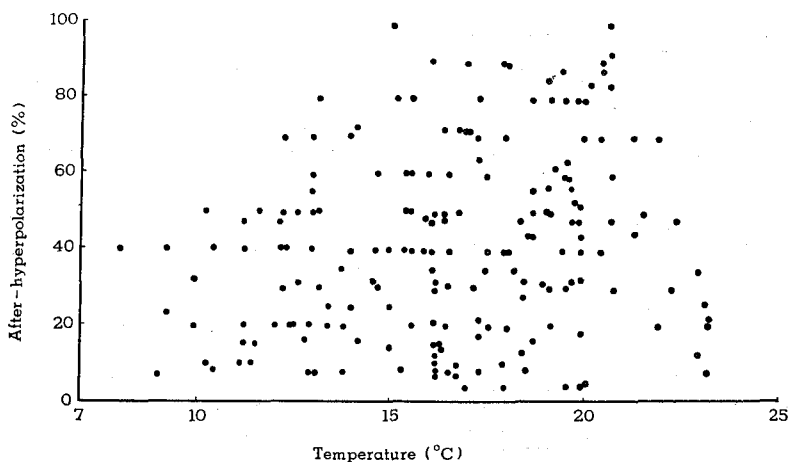
高さの $1/3$ にまで下降する間のピークからの期間を測定した(第2図参照)。パチニー小体の受容器電位では下降期が種々の温度で exponential decay を示すというが¹⁶⁾、その下降期の時定数と OAP の $1/3$ decay time とがほぼ対応するものと思われる。OAP の $1/3$ decay time は温度が低くなるにつれて増加した。この Q_{10} は負の値をとり 1.75~2.6でパチニー小体のそれよりも大きく、ヤリイカ巨大神経のスパイクの下降期の Q_{10} (2.06~5.3)よりも小さかつた(Hodgkin & Katz,

1949¹³⁾、パチニー小体では負で1.10 (Inman & Peruzzi, 1961¹⁶⁾)又は1.20 (Ishiko & Loewenstein, 1961¹⁷⁾)であつた。これらの結果から OAP とパチニー小体の下降期は性質を異にするのであらうと思われる。

d) After-hyperpolarization—陽性後電位

時々 OAP は陽性後電位をとまなう。これはある種の受容器電位、たとえばザリガニの筋の張力受容器 (Eyzaguirre & Kuffler, 1955⁶⁾)や、蛙の筋紡錘に発生する緩電位 (Katz, 1950¹⁸⁾)、また伝導性活動電位であるが、ヤリイカ巨大神経線維 (Hodgkin & Katz, 1949¹³⁾)や、細胞外誘導であるが哺乳動物の無髄神経線維 (Richie & Straub, 1957²⁰⁾)にもみられる。第3, 4図の例では陽性後電位は一定の照射条件にもかかわらず、23°Cの室温から温度を下げてゆくと、次第に大きくなり17.4°Cで4.5mVとなり最大となつた。さらに温度を下げてゆくと消失した(第3, 4図f)。前述したように、陽性後電位は照射間隔によつて影響をうける(第3, 4図)。照射間隔が短い時の陽性後電位は長い時より大きい。温度が高くなると OAP の持続時間の減少につれて、ヤリイカ巨大神経のスパイク電位の時と同じように、OAP の陽性後電位ははやく消滅する傾向がみられた。

温度と陽性後電位との関係を第9図に示した。



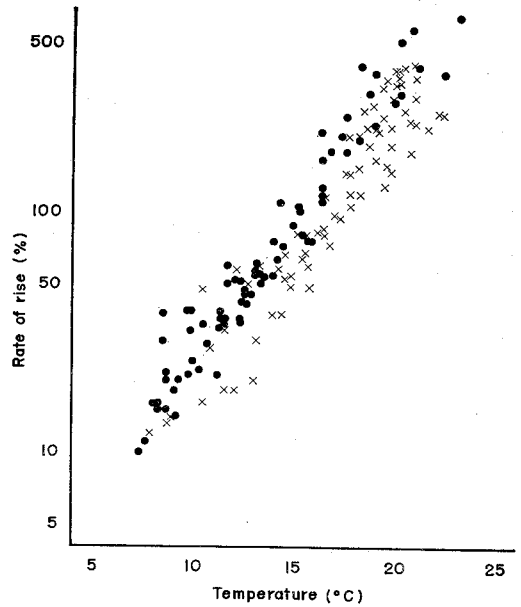
第9図 OAPの陽性後電位の大きさと温度との関係。
グラフ上の各点は各標本の最大の陽性後電位の大きさを100として百分率でプロットしたもの。

その大きさは各標本からの反応の最大の値を 100 として百分率であらわした。照射間隔60秒, 15秒のものを区別なく同一のグラフ上に温度に対してプロットした。図にみられるように, 陽性後電位の出現は温度により左右されているが, 大きさについてはばらつきがあつて一概にいい難い。しかし温度を下げると減少する傾向にあるが, 最大値を示した温度は各標本により異り, 15°C~21°Cの間に分布していた。著者の実験範囲内では, 陽性後電位は9°C以下ではみられなかつた。これは低温になると OAP の高さが減少することにも基因していると思われる。この現象は, 一般に刺激の強さを減少していつた時に陽性後電位が消失するという事実と関連していると思われる(Kikuchi & Tazawa, 1960²³⁾。

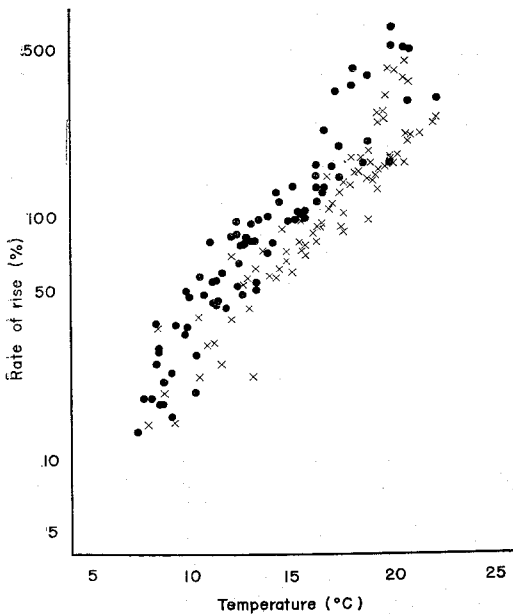
この陽性後電位の成因については, これに影響する他の種々要素とともに, OAP の発生機序を形質膜を通してのイオンの移動として考える立場から更に考察を進めなければならないだろう。

e) OAP の上昇率および下降率

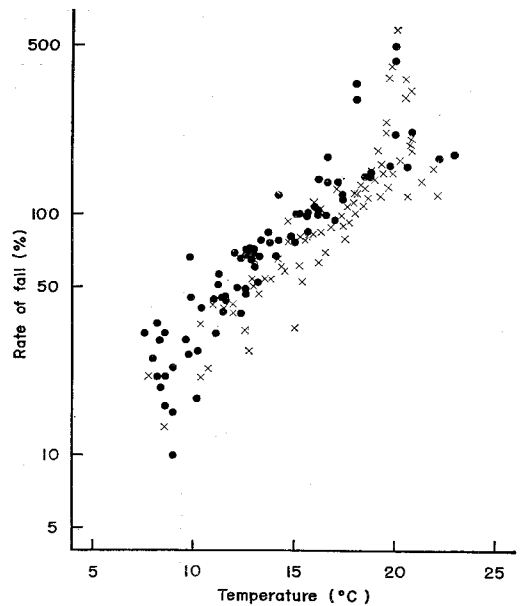
第2図に示したように上昇率および下降率を求



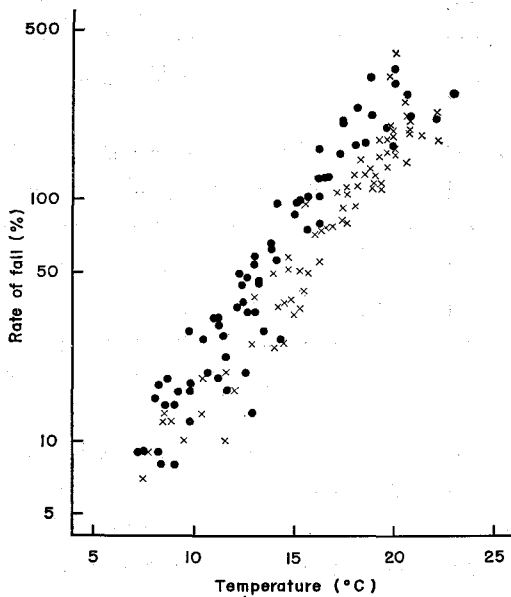
第11図 OAP の上昇率と温度との関係
第10図と同様にして求めたグラフ。ただし照射間隔: 15秒。



第10図 OAP の上昇率と温度との関係
第2図に示したように上昇率を求め, 15°Cの時の値を 100として百分率で各値を対数目盛上にプロットしたもの。照射間隔: 60秒。



第12図 OAP の下降率と温度との関係
第2図に示したように下降率を求め, 15°Cの時の値を 100として百分率で各値を対数目盛上にプロットしたもの。照射間隔: 60秒。



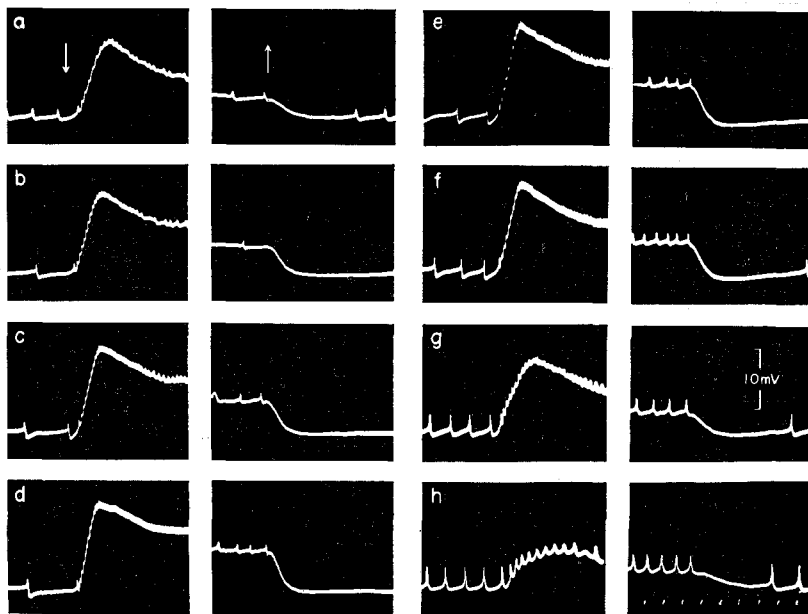
第13図 OAPの下降率と温度との関係
第12図と同様にして求めたグラフ。ただし照射間
隔：15秒。

めて図示したが(第10, 11, 12, 13図), 両者とも温度により非常に影響をうけることがわかる。これらの Q_{10} はパチニー小体からのものや、ヤリイカ巨大神経からのものよりはるかに大きかった。

f) steady depolarization

OAPの steady depolarization である“static phase”の最終値の大きさは照射間隔の長さによつては影響されず、照射光の強さによつてのみ変化する(Kikuchi & Tazawa, 1960²³)。温度変化によつても“static phase”は“dynamic phase”の高さが変化するほど大きくはないが、影響をうける。

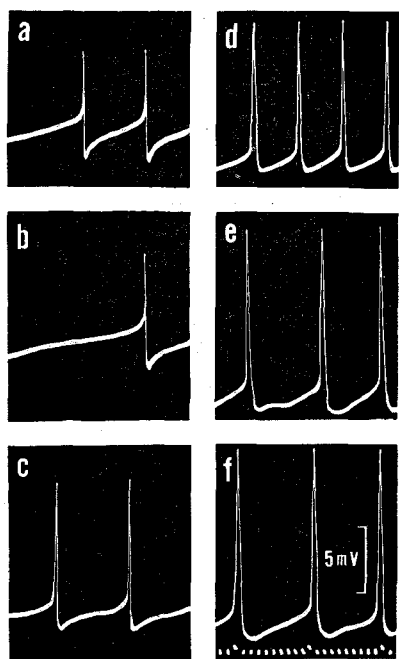
第14図は、長い照射によつて得た OAP で“static phase”についての温度効果をみた数少ないものの1例である。“dynamic”と“static phase”の両相についての影響をみた。これらの高さは温度を下げると減少したが、フラッシュ刺激による“dynamic phase”のみの単純な形の OAP に対する効果よりも少なかった。“static phase”の高さの Q_{10} は約 3.0であつた。



第14図 OAPの static phase に対する温度効果

長い光刺激により、dynamic phase だけでなく static phase に対する温度効果をみたもの。

↓：光刺激の on サイン。↑：光刺激の off サイン。時標：0.1秒。各記録時の温度は、a: 15.2, b: 18.0, c: 18.8, d: 20.2, e: 17.2, f: 16.0, g: 14.0, h: 9.0 (°C)。



第15図 スパイク電位に対する温度効果
 温度を下げゆくとスパイクの高さと巾が増大する。各記録時の温度は、a: 20.8, b: 17.4, c: 14.4, d: 12.6, e: 10.4, f: 8.4 (°C)。時標: 0.1+1秒。

“dynamic phase”の Q_{10} はフラッシュ刺激によるものより長い照射をした時の方が小さいことがわかった。これは長い照射によつて“dynamic phase”の depression があらわれるためと思われる。

2. スパイク電位に対する温度効果

自発性スパイクは殆んどの標本について20°C~23°Cの室温でみられたが、多くの例で18°C~20°Cで消失し、再び8°C~10°Cで出現した。この事実は、温度変化によつて静止時膜電位と膜抵抗が多少変化することによるのではないかと思われる。低温における自発性スパイクはザリガニの張力受容器が完全に弛緩した時にも自発性放電をおこすのと同じ現象で、“冷血動物の温度に対する補償作用”，言い換えれば、低温になるとスパイク放電を発生しやすくなるような機序があるとみなしてよいと思われる (Burkhardt, 1959²⁾)。

低温でみられるスパイクは4°Cになつても消失しなかつた。

スパイク電位の各部分の測定は OAP の場合よ

りも困難であつた。というのはスパイクの連続している時には、先行するものの終りと次のスパイクの立上りの始点との区別が不明瞭となるためである。

第15図にスパイク電位の温度効果を示した。スパイク電位を主に観察するために非常に弱い長い照射を用いた。スパイクの高さと持続時間を測定した。高さはスパイクの立上りの始点からピークまでの高さ、持続時間は測定を容易にするために peak to peak value (陽性後電位の最大値からピークまでの値) の50%のところで測定し、比較することにした。

液温を下げゆくとスパイクの高さは漸次増して、持続時間は増大した。この変化も可逆的であつた。温度に対してこれらの測定値を図示するとほぼ直線関係となるので、 Q_{10} を求めた。高さの Q_{10} は負で 1.3~1.6、持続時間の Q_{10} は負で 2.0であつた。

高さの Q_{10} はヤリイカ巨大神経のもの ($Q_{10}=1.2$) とほぼ同じであつた (Hodgkin & Katz, 1949¹³⁾)。また哺乳動物の有髄神経の値よりすこし大であつた。たゞし両者の Q_{10} の符号は異つている。

IV. 考 察

現在活動電位の発生は主として Na-説を基礎として考えられている。活動電位の1種である緩電位を分析するのに、緩電位が温度にどのように影響されるかを調べることは、緩電位の発生にイオンの移動と関連してどのような化学的、物理的な過程が含まれているかを考察するのに有効な手段と思われる。

本実験で得られた OAP の各成分の Q_{10} が他の緩電位や、伝導性の活動電位の値よりもいずれも大きいことをまず注目しなければならない。そしてこの点から考察をすすめてゆくことにする。

OAP の高さ と上昇率についてみると、低温にした時の効果は、光刺激の強さ、照射間隔を短かくした時、あるいは外液の Na イオン濃度を減らした時の効果と同じであることがわかつた (Kikuchi & Tazawa, 1960²⁰⁾; Kikuchi et al²¹⁾)。パチニー小体の受容器電位で報告されているように (Gray & Sato, 1953⁹⁾) OAP の高さもまた形質膜を通る活動時の電流が0になる時の条件によ

つてきめられ、上昇率は内向き電流の強さに依存しているとみられる。したがって OAP の高さ と 上昇率を規制する諸因子は、光—電気変換過程の内の異つた段階に働くとしても結局は、照射中に膜を通過する電流に同じような効果をもたらすのであろうと思われる。この考えによれば本実験で得られた結果は、温度を下げると光刺激によつておこされる膜のコンダクタンスの変化が高温の時よりすくなくなることを意味することになる。

静止電位および、膜の静止時電気的特性については、他の興奮性組織での報告によれば (Tasaki & Spyropoulos 1957³⁰) 温度効果はあつても比較的わずかであるので、特に OAP の Q_{10} が大きいことをこれらによつて説明するのは困難といえよう。そこで光受容器電位発生メカニズムが、他受容器電位と異なる点は光エネルギーから電气的エネルギーへの変換過程であるので、この点について考察を進める。

光エネルギーから電气的エネルギーへの変換過程の第一段階は光化学反応であろう。光に対する視物質の反応については古くから化学的に詳細に研究されている。*Limulus* の側眼からの視物質溶液の吸収帯はロドプシン溶液のそれと一致することから、*Tachypleus* の側眼に含まれる視物質も恐らくロドプシンと推定される (Hubbard & Wald, 1960¹⁴)。そのロドプシンの褪色過程は温度を下げると著明に延長することがわかつた (Hagins, 1956¹⁰; Wulff, 1957³⁰)。さらにまたロドプシンの光化学反応は、温度に依存する暗反応をともなつているともいわれる (Wald, Durell & St. George, 1950³⁴, Wald, Brown & Gibbons, 1962³³)。ロドプシンのレチネン—オプシンに分解するに要する時間は、e.r.g. の潜伏期よりも速い。この結果から光化学物質の分解過程は、視覚興奮の過程に関与していると考えて差支えないことがわかる。

これらの事実から OAP の Q_{10} が他の興奮性組織の活動電位の Q_{10} よりも大きいことの理由の一つは、上記の変換過程の中に温度に依存する暗反応を含むことによると説明されると思う。

竹内 (1958²⁹) は蛙の神経筋接合部から誘導さ

れる終板電位の温度効果をみているが、OAP のそれと似たような結果を示している。終板電位では、 Q_{10} が比較的大きな値を示すことの理由として伝達物質の放出量が温度に依存していることによると説明している。

Fuortes (1959) によれば、*Limulus* の OAP は光照射の間に光受容器から産生されるある化学物質の活動によるものと考えられている。OAP が化学物質の量と、放出の割合によつて規制されるとするならば、eccentric cell の distal process の膜上にある receptor の反応速度や、receptor の transmitter の分解が温度によつて左右される可能性も否定しえないだろう。しかし OAP は retinula cell から発生する可能性を支持する実験事実があるので (Tomita et al 1960³²; Kikuchi & Ueki unpublished), OAP の発生の機序が伝達物質によるものであるという考えは更に検討する必要がある。

OAP の発生部位が retinula cell であるという考えに関連して、ミツバチの個眼についての実験が想起される (Naka & Eguchi, 1962²⁶)。ミツバチでは明かに光受容器とみられている retinula cell から光照射に應ずる緩電位が誘導されている。

さてスパイク電位についてここで考察を進めなければならぬ。ここで観察しているスパイク電位は、電極刺入部位からある距離はなれた部位で発生しているものを、電気緊張的に記録しているものと考えられている (Tomita, 1956³¹; Fuortes, 1959²⁸; Tomita et al, 1960³²)。したがつてスパイクの各要素は、形質膜の時定数と誘導電極の刺入される細胞の内部抵抗によつて影響をうける (Tasaki & Spyropoulos, 1957³⁰)。そこで本実験で記録されたスパイクの温度による影響を、ただちに発生部位のスパイクの温度効果とみなすのは危険である。

Limulus では retinula cell の線維性突起は発火しないという報告があるので (Waterman & Wiersma, 1954³⁰)、OAP に重畳するスパイク電位について、もし OAP が retinula cell で発生するならば、eccentric cell との間の特異な電気

的結合を考えなければならない。

本実験の場合は、一般に膜容量は温度の影響をうけることがすくないといわれるので³⁰⁾, retinula cell と eccentric cell 両者の膜抵抗と内部抵抗の温度による変化を考慮に入れる必要があるだろう。

以上 OAP の Q_{10} の大なることと、スパイクの温度変化による効果に關与する要因について考察してきたが、ここで実験条件とか、acclimatization ということが実験結果に大いに影響を及ぼすことを考えなければならない。

両棲類の神経の温度効果に対する acclimatization の影響をみた報告がある。同じ動物を使用しても異つた環境におくと同一の温度効果が生じないことはすでに議論されている (Hodgkin & Katz, 1949¹³⁾; Crescitelli, 1957⁵⁾)。本実験でも、春と冬に同様の実験を試みているが結果に多少差を認めた。結局、冷血動物であるから、その代謝は温血動物に比べて、1年を通じて変化が大であり、それが温度効果の季節による差を大にしているものと思われる。

また、同じカブトガニでもその緩電位の高さの Q_{10} が 1.0~1.3 という小さい値を示した報告がある (Wulff, 1959³⁰⁾)。同一研究者によつてバツタの眼についての同様な報告がある。ここでは数日間ある温度条件においたバツタの眼からの反応の大きさが、すこしも温度によつて影響をうけないような刺激の強さと刺激間隔が決められている。この結果を今回の OAP の結果と直ちに比較することはできない。

色々な種類の、あるいは同一種類の動物の眼に対する温度効果に差があることは、実験条件による差や、動物の acclimatization による差をはじめとして、網膜活動電位の発生に横たわっている機序等々から考えられるが、現在各要因がどのように温度効果に關与しあつているか明らかでない。

これらの実験結果の差がどうであろうとも、今回の実験条件下で得られた日本産カブトガニの OAP の場合には、つぎのように結果を総括できる。

OAP の上昇期を左右する機序あるいは過程は、OAP の下降期のそれよりも温度の影響を大

きくうけること、それに反してスパイク電位の上昇期と下降期との間に逆の關係が存在することである。これにより OAP およびスパイクの高さの温度効果が決められることになる。しかしながら、視物質の研究も加わつて、さらに新しい実験事実を待たなければ、網膜緩電位の温度効果を決定的に議論することはできないと思われる。

V. 要 約

1. 日本産カブトガニ (*Tachypleus tridentatus*) の単一個眼から活動電位を誘導し、照射間隔を二つに変えて、外液の温度を約 7°C~23°C に変化させた時の活動電位を記録した。
2. 単一個眼から誘導されるスパイクをともなう緩電位の高さは、温度を下げると減少した。一方その上昇期と下降期の持続時間は増大した。
3. スパイク電位の高さと持続時間は、温度を下げると増大した。
4. 緩電位の陽性後電位は、低、高温で減少し、15°C~21°C の間で最大値を示した。
5. 緩電位の高さ、上昇期、下降期、上昇率、下降率等の回帰方程式と温度係数を計算した。
6. 照射間隔を短かくして得られた OAP の各成分の Q_{10} は、照射間隔を長くした時のものより大であつた。
7. これらの活動電位に対する温度効果について種々の考察を試みた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲下さいました菊地録二教授に深甚なる謝意を表します。

参考文献

- 1) Benolken, R.M.: Reversal of photoreceptor polarity recorded during the graded receptor potential response to light in the eye of *Limulus*. *Biophys J* 1 551—564 (1961)
- 2) Burkhardt, D.: Effect of temperature on isolated stretch receptor organ of the crayfish. *Science* 129 392—393 (1959)
- 3) Burn, J.H., D.J. Finney & L.G. Goodwin: *Biological Standardization*. London: Oxford University Press (1950)
- 4) Burton, A. C.: Temperature of skin; Measurement and use as index of peripheral blood flow. In *Methods in Medical Research* 1 146—166 ed. Potter, V.R. Chicago: The Year Publishers (1948)

- 5) **Crescitelli, F.:** Modification by low temperature of certain ion responses of bullfrog nerve fibres. In *Influence of Temperature on Biological Systems*. ed. Johnson, F.H. Washington: American Physiological Society (1957)
- 6) **Eyzaguirre, C. & S.W. Kuffler:** Processes of excitation in the dendrites and in the soma of single isolated sensory nerve cells of the lobster and crayfish. *J gen Physiol* 39 87—119 (1955)
- 7) **Fry, W.J., V.J. Wulff & M. Brust:** Retinal action potential-effect of temperature on magnitude and latency in the glasshopper. *J cell comp Physiol* 45 265—272 (1955)
- 8) **Fuortes, M.G.F.:** Initiation of impulses in visual cell of *Limulus*. *J Physiol* 148 14—28 (1959)
- 9) **Gray, J.A.B. & M. Sato:** Properties of the receptor potential in Pacinian corpuscles. *J Physiol* 122 610—636 (1953)
- 10) **Hagins, W.A.:** Flash photolysis of rhodopsin in the retina. *Nature Lond* 177 989—990 (1936)
- 11) **Hartline, H.K., H.G. Wagner & E.F. MacNichol, Jr.:** The peripheral origin of nervous activity in the visual system. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* 17 125—141 (1952)
- 12) **Hecht, S.:** The effect of temperature on the latent period in the photic response of *Mya arenaria*. *J gen Physiol* 1 667—685 (1919)
- 13) **Hodgkin, A.L. & B. Katz:** The effect of temperature on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J Physiol* 109 240—249 (1949)
- 14) **Hubberd, R. & G. Wald:** Visual pigment of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Nature Lond* 186 212—215 (1960)
- 15) 飯沼守夫・保倉進・館澄江・菊地鏢二: カプトガニ (*Tachypleus tridentatus leach*) の側眼構造について. *東女医大誌* 33 429 (1963)
- 16) **Inman, D.R. & P. Peruzzi:** The effect of temperature on the responses of Pacinian corpuscles. *J Physiol* 155 280—301 (1961)
- 17) **Ishiko, N. & W.R. Loewenstein:** Effects of temperature on the generator and action potentials of a sense organ. *J gen Physiol* 45 105—124 (1961)
- 18) **Katz, B.:** Depolarization of sensory terminals and the initiation of impulses in the muscle spindle. *J Physiol* 111 261—282 (1950)
- 19) **Kikuchi, R. & S. Minagawa:** On the effect of barium ions upon the action potentials of the photoreceptor. *J Physiol Soc Japan* 23 498—499 (1961)
- 20) **Kikuchi, R., K. Naito & S. Minagawa:** Effect of temperature on the retinal slow potential of the horseshoe crab. *Nature Lond* 190 1011—1012 (1961)
- 21) **Kikuchi, R., K. Naito & I. Tanaka:** 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—343 (1960)
- 22) **Kikuchi, R. & I. Tanaka:** Physiological saline solution for the horseshoe crab. *Annot Zool Japan* 30 177—180 (1957)
- 23) **Kikuchi, R. & M. Tazawa:** Effect of intensity, duration and interval of stimulus on retinal slow potential. In *Electrical Activity of Single Cells*. Tokyo Igakushoin pp 25—38 (1960)
- 24) **Ling, G. & R.W. Gerard:** The normal membrane potential of frog sartorius fibers. *J cell comp Physiol* 34 383—396 (1949)
- 25) **Lucas, K.:** The temperature coefficient of the rate of conduction in nerve. *J Physiol* 37 112—121 (1908)
- 26) **Naka, K. & E. Eguchi:** Spike potentials recorded from the insect photoreceptor. *J gen Physiol* 45 663—680 (1962)
- 27) **Richie, J.M. & R.W. Straub:** The hyperpolarization which follows activity in mammalian non-medullated fibres. *J Physiol* 136 80—90 (1957)
- 28) **Stieve, H.:** Ueber die temperaturabhängigkeit des Belichtungs-potentials von Eupagurus. *Verh dtsch zool Ges* 84—89 (1960)
- 29) **Takeuchi, N.:** The effect of temperature on the neuromuscular junction of the frog. *Jap J Physiol* 8 391—404 (1958)
- 30) **Tasaki, I. & C.S. Spyropoulos:** Influence of changes in temperature and pressure on the nerve fibre. In *Influence of Temperature on Biological Systems* ed Johnson, F.H. Washington: American Physiological Society (1957)
- 31) **Tomita, T.:** The nature of action potentials in the lateral eye of the horseshoe crab as revealed by simultaneous intra- and extra-cellular recording. *Jap J Physiol* 6 327—340 (1956)
- 32) **Tomita, T., R. Kikuchi & I. Tanaka:** Excitation and inhibition in lateral eye of horseshoe crab. In *Electrical Activity of*

- Single Cells Tokyo Igakushoin pp. 11—23 (1960)
- 33) **Wald, G., P.K. Brown & I.R. Gibbons :**
The problem of visual excitation. *J opt Soc Amer* 53 20—35 (1962)
- 34) **Wald, G., J. Durell & R.C.C. St. George :**
The light reaction in the bleaching of rhodopsin. *Science* 111 179— 181 (1950)
- 35) **Watase, S.:** On the morphology of the compound eyes of arthropods. *Biol Studies Johns Hopkins Univ* 4 287— 334 (1890)
- 36) **Waterman, T.H. & C.A.G. Wiersma :**
The functional relation between retinal cells and optic nerve in *Limulus*. *J exp Zool* 126 59—85 (1954)
- 37) **Wulff, V.J.:** Effect of temperature on visual processes. In *Influence of Temperature on Biological Systems*, ed Johnson. F.H. Washington: American Physiological Society (1957)
-