

2-Amino-4-Phenylthiazole のマゴイに対する 麻醉作用に関する電気生理学的研究

関沢 泰治・菊池 孝彦・鈴木 明

(1971年5月25日受領)

Electrophysiological Surveys on the Anesthetic Properties of 2-Amino-4-Phenylthiazole upon Carp (*Cyprinus carpio*)

Yasuharu Sekizawa, Takahiko Kikuchi, and Akira Suzuki

Surveys were performed regarding the electrophysiological characteristics of inhalation anesthesia with 2-amino-4-phenylthiazole upon carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus). Major centrifugal nerve-muscle systems (such as spinal nerve with levator muscle of anal or pectoral fin and cerebral nerve with mandibular muscle) and major sensory organs with centripetal nerve systems (such as olfactory organ with its nerve, eye with optic nerve, labyrinth with the VIII nerve and lateral organs with the X nerve) were observed to be still electrophysiologically active under the anesthetized condition. Any detrimental effect upon heart beating under the anesthetized condition was not observed so far with the electrocardiograms directly derived from the exposed hearts. Any depressive effect on the action potential of an isolated preparation of postesophageal ample of the alimentary canal was not observed by the direct application of the compound in Masugi's solution. The electroretinogram under the anesthetized condition was still normal. The electrical response of optic lobe of midbrain was also still normal under the anesthetized condition when an eye in the opposite side was irradiated by incandescent lamp. Temporary depressive effects observed in the extent of the present investigation were summarized as follows: (1) Although the inhibitory effect on the function of the olfactory system (from olfactory organ to its nerve via olfactory bulb) was not observed, the electrical response of forebrain seemed to be weakened under anesthetized condition. This was reinforced by the direct application of the compound into forebrain by fine glass capillary. The direct application upon the isolated axon of olfactory nerve did not give the depressive effects. (2) Although the inhibitory effect on the acousticolateral system was not observed, the induced action potentials around the frontal inside of medulla oblongata (near pons) seemed to be weakened under the anesthetized condition when spinal cord was electrically stimulated. The same depressive effect was observed only by the direct application of the compound into inferior lobe of interbrain with fine glass capillary. (3) Spontaneous 16-18 Hz wave derived from the center part of cerebellum was rapidly disappeared and reappeared in the anesthesia and its recovering process. This was also reinforced by the direct application into cerebellum. (4) Under critical condition at inhalation anesthesia such as in the application of high concentration and/or a long time run, autonomic characteristic of respiratory center seemed to be disordered, and finally a paralysis in the center caused death. The direct application of the compound into deep position of pons caused a seizure type discharge similar to the case of the critical treatment under inhalation anesthesia. Under the anesthesia in an appropriate grade, the oxygen uptake due to respiration was decreased to one fourth of that under vigorous swimming condition and was approximately equal to the oxygen uptake under the stationary condition. The above experimental evidences seemed to imply that the characteristic of inhalation anesthesia caused by 2-amino-4-phenylthiazole upon carp should be attributed to its centrally acting mechanism.

(Research Laboratories, Meiji Seika Kaisha, Ltd., Morooka-cho, Kōhoku-ku, Yokohama, Japan)

thiazole 核を有する薬物で温血動物に対し向神経作用性を示す医薬に供されているものは比較的少ないが、Buchman (1936) により 5-hydroxyethyl-4-methylthiazole* が Clarke and Gurin (1935) により 5-(2-chloroethyl)-4-methylthiazole** が知られている。前者は鎮静剤、催眠剤に、また後者を含め鎮痙剤として作用する薬物であって、いずれも thiamine 合成の中間体として得られたものである。2-amino-thiazole および 2-amino-4-methylthiazole は医薬には供せられていないが、ネコに対し静注投与で麻酔性のあることが Efimov and Bednyagina (1945) により記載されている。それらの化学構造式を Fig. 1 に示す。しかしながら現在のところこれら化合物の脳・神経生理学的ないし生理化学的作用機構は未詳のままに残されている。

菊池・他 (1971) は先に冷血動物の鎮静ないし麻酔剤を求める目的で主として 4-phenylthiazole 系化合物を探索し、結局 2-amino-4-phenylthiazole および 2-methyl-4-phenylthiazole (臭化水素酸塩、塩酸塩などの礦酸塩、methanesulfonate その他有機酸塩) を性能の優れたものとして選出し得たことを報告した。本薬物類についてはその魚類麻酔鎮静性を魚類への麻酔施術・活魚輸送などに応用するべく研究中であるが、その魚類への作用性の概要を電気生理学的に把握することは、適用の方法論的基礎を与えるのみならず、広く thiazole 系化合物の向神経作用性の一端を窺わせるのではないかと

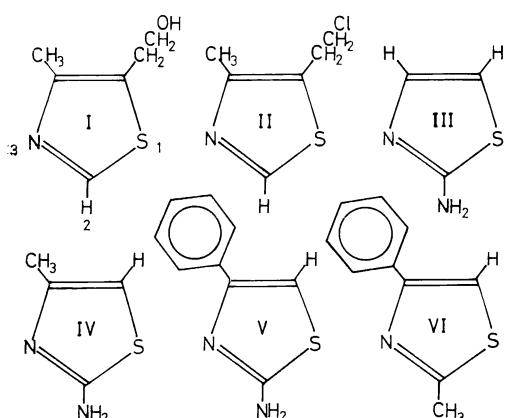


Fig. 1. Chemical structural formulas of thiazole derivatives. I: 5-hydroxyethyl-4-methylthiazole. II: 5-(2-chloroethyl)-4-methylthiazole. III: 2-amino-thiazole. IV: 2-amino-4-methylthiazole. V: 2-amino-4-phenylthiazole. VI: 2-methyl-4-phenylthiazole.

* Merck Index (1960) p. 540

** Ibid. p. 243

考え、本研究を行なった。

本報では 2-amino-4-phenylthiazole のマゴイに対する麻酔性の電気生理学的特性で特に抑制効果を得た知見について詳細を報告することとした。

材料と方法

生体電気現象の測定には、三栄測器(株)社製 110 SYSTEM 2 素子多用途記録装置に 1205 B 型増幅器を入れ 5760 型ペン書きオッショグラフまたはナショナル VP-543 A シンクロスコープに依り記録した。使用した電極は新栄電気製作所製の釣針型電極(双極 I-513)、外径 0.3 mm の特製同心円電極、自製の塩化銀・銀電極(径 0.5 mm 針金型および径 10 mm、厚さ 0.5 mm 円板型)、先端 0.5 mm を残し絶縁塗装した鉄針電極(極細鋼針)および 3 M KCl を満たした手引きのガラス毛細管電極(約 20 MΩ)である。ガラス毛細管電極を用いる時は MA-1001 型前置増幅器を使用した。電気刺激装置には同社製 3 F 31 型を用いた。以上の装置の使用条件については実験ごとに述べる。呼吸による溶存酸素の消費は島津 OCL-1 型甘汞電極を対極とし島津 CCL-1 型白金電極を用い、polarographic な方法で Sekizawa and Ohashi (1970) に従い連続測定した。

実験には当才より 2 年までのマゴイ (*Cyprinus carpio Linnaeus*) を用いた。すべて神奈川県淡水魚増殖場村山隆夫技師より孵化後約 3 か月の幼魚の分与を受け当所飼育水槽にて毒性試験に供試の目的で飼育したものである。魚体の固定を要する時は接地しうる鉛板(厚さ 1.5 mm)を用いた。この固定板は関野 (1970) によるもので体軸に対し直角に 10 mm ごとに切目を入れ、自在に魚体を固定出来る。魚類解剖学上の用語は尾崎 (1970: 6 and 32) および内田・岡田 (1960: 228) に依った。実験に使用した 2-amino-4-phenylthiazole は当所化学一室西尾元宏主任研究員の合成したもので、臭化水素酸塩の食塩 10 倍散または methanesulfonate として用いた。その他の試薬はすべて市販品を用いた。

薬物の投与は薬浴法により、また脳内に投与するにはガラス毛細管を同径の注射針に細ビニール管で接合し注射筒を用いて行なった。前者の薬浴法の意義を知るために下記の予備実験を行なった。また後者については馬杉氏液 (川本, 1963: 73) を脳各部に注入し電気生理的活動に異常のないことを確かめた。本薬物による薬浴麻酔をマゴイに施術する場合、22°C での麻酔では 40 ppm より 25 ppm 位、鎮静では 15 ppm より 8 ppm 程度が一般的に応じ用いられた。いま本薬物を魚体内濃度が均一になると仮定して 100 ppm になるように腹側筋に筋肉内

注射し、新鮮水にもどして観察したが麻酔性は認め難かった。次に同濃度になるように腹腔内注射し同様に観察したが弱い鎮静作用が認められるに過ぎなかった。しかし魚体内濃度が 25 ppm になるよう露出した大動脈幹にガラス毛細管で注入し同様にして観察したところ数分間であったが明確に麻酔状態に入ることが観察された。また頭蓋腔内濃度が 200 ppm になるように頭蓋腔内延髄背側部に注入したが麻酔性は認め難くむしろ興奮性を観察した。また開腹手術により消化管上部結紩、肝脾臓、脾臓、腎臓、胆嚢を各々切除後縫合し 2 日間餌育し、活潑に遊泳するのを確かめた標本により薬浴麻酔を試みたところ、よく 25 ppm で麻酔されるのを観察した。これらの知見から薬浴法は本薬物の場合経鰓投与法（即ち吸入麻酔法）と推定され、いずれにしても魚類を麻酔状態にするには本薬物が直接血流中に入ることが必要であり、また本薬物の麻酔効果には少くとも肝脾臓、脾臓、腎臓、胆嚢などの生理化学的機能は無関係であることを推察した。

実験結果

薬浴麻酔下抑制効果の認め難かった電気生理学的諸特性

(1) 鰓拳筋 筋電図 (EMG) での結果

全長 15 cm 位のマゴイ 2 年魚を取り上げ、釣針型電極を臀鰓条拳筋に至る脊髄神経に近く側線腹側に打ち込み、電気刺激して臀鰓が完全に開閉することを確認してから同拳筋附近に同じく釣針電極を打ち込み、通気した水中にもどし（対照では細目ネットペールで魚体を覆い飛躍を抑えた）、水中に銀板電極を入れ接地し電気刺激により同拳筋が拳縮し臀鰓が開閉する時の EMG を双極誘導で時定数 0.03 で記録した。その後同個体で 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate を 12.5, 25 あるいは 100 ppm になるよう水中に投入溶解し、同様に EMG を取り対照と比較した。濃度による本質的な差は認め難く、100 ppm 1 時間 50 分の薬浴で深い全身麻酔を経て呼吸運動がみかけ上殆んど停止した状態下でも、薬物処理区の EMG は無処理対照区のそれと差を認めなかつた。これと同じ結果は胸鰓拳筋に至る脊髄神経を電気刺激しその拳筋附近より EMG を導出し、薬物処理区と無処理対照区の EMG を比較することにより得ることが出来た。また別の実験で釣針型電極を第 V より第 VII 神経が頭蓋より出る辺りに打ち込み電気刺激するとその僅かな位置の差で種々の呼吸運動閥与筋を動かすことが出来るが、口器に活潑な開閉運動があり同時に鰓皮部開閉も見られたので更に下顎内転筋附近に釣針型電極を打ち

込み EMG を観察した所、上述同条件の薬物処理時の EMG は無処理対照区のそれと差を認めなかつた。

以上の実験的観察から薬浴処理で深い麻酔状態にあっても遠心性神経一筋系はなお活性を保っているものと認めた。

(2) 心電図 (ECG) での結果

100 ppm の過剰量で 2 時間近く薬浴麻酔処理しみかけ、上の呼吸運動の停止した個体を取り上げ直ちに開腹して心臓を露出し、心房および心室より金属製小セルフイン (serrefin) で双極誘導し時定数 0.3 で記録した ECG を無処理の別個体のそれと比較したが本質的な差は認め難かった。なお魚体は接地した。また心臓各部より単極誘導しても薬浴麻酔の影響は認め難かった。

深い麻酔の臨界状態でみかけ上の呼吸が停止してもなお心拍動が認められ、その ECG に著しい差を認め難いので本薬物による麻酔は心臓の刺激伝導系および支配神経系に著明な影響を及ぼさぬものと判断した。

(3) 消化管での結果

上述と同様マゴイ 2 年魚を用い、それより得た腸管（胃相当部）により、本川（1951：44）の方法に従い、35°C の馬杉氏液中における活動電位に与える本薬物の直接的作用を調べた。その活動電位は腸管の内外より塩化銀・銀電極で誘導した。粘膜側をグリッドへとり、壊膜側を接地した。馬杉氏液にはガラス細管で通気した。液温 20°C では電位変動幅は小さく、30°C より 35°C でよく認められ、40°C では振幅は再び減弱し比較的短時間で活動が著しく弱まった。先ず壊膜側の馬杉氏液に 50 ppm になるよう本薬物臭化水素酸塩を加え、次いで粘膜側の液を同濃度の薬液に入れ換えて測定したが抑制効果は認められなかつた。本薬物による麻酔では摂餌およびしばしば脱糞が停止し、予め餌止めしないと 10 時間以上の麻酔ないし強い鎮静処理では腸管内容物の酵解により腹部が膨満し、長時間ではときに腸管破裂が死因となるものがある。もし消化管関連の機能に抑制が掛るのであれば内臓神経支配で中枢性のものでないかと思われるが未詳である。

(4) 網膜電位図 (ERG) と中脳蓋での結果

小西（1958）が記載している方法で全長 6 cm マゴイ当才魚より採取した摘出眼球により網膜活動電位 (ERG) が薬浴麻酔により影響を受けるか否か調べた。本薬物 methanesulfonate 100 ppm 1 時間薬浴処理で呼吸運動が殆んど停止し深い麻酔状況にある魚体より摘出した眼球でもその ERG は無処理のものと大差なく、小西（1958）によって記載されたフナの ERG と同様で末梢の光受容機能に影響のないものと判断された。次に同様の光刺

激によって中脳蓋に誘発される活動電位を小西（1958, 1961）の方法により薬浴麻酔下で測定し、影響を受けるか否かを明順応体につき調べた。なお露出脳標本では呼吸停止後も ECG と思われる波動が迷入することがあったので断頭し心臓を完全に摘出除去し、コルク板に固定して時定数 0.3 で測定した。本薬物 100 ppm による過度の薬浴麻酔処置でも中脳蓋誘発電位には何等著しい影響がないものと判断された。麻酔時少くとも視覚については中脳視葉までは活性を保っているものと判断される。

(5) 脳神経求心性線維での結果

薬浴麻酔が第 VII, VIII, および X 神経束への求心性インパルスを諸感覚器から送出する機能に及ぼす影響を調べた。全長 12 cm のマゴイ 2 年魚を用いた。魚体を鉛固定板に止め、半ば水に浸漬通気し、麻酔する時は薬浴とし、薬液が内部に附着せぬように留意しつつ開頭し、脳神経を引っ張って切断せぬように注意して除脳した。拡大鏡で頭蓋腔に出てる脳神経を観察しながら小型フック型塩化銀・銀線電極で第 VII, VIII 次いで側線枝を含む第 X 神経束を次々と吊り上げ、各々グリッドにつなぎ、魚体を接地した。時定数 0.3 で測定した。第 VII 神経束では顔面に分布する感覚器よりの求心性神経を含むので眼科用細ガラス棒で鼻孔と眼球の中程を極く軽く一回擦ることによる中枢への入力インパルスを以って比較した。このインパルスは例えば魚体背部へ触れたのでは検出されない。薬浴麻酔処置 (methanesulfonate で 40 ppm) でこの機能は低下消失することは無かった。第 VIII 神経束は平衡聴器よりの求心性神経である。楔耳骨の外側を細ガラス棒で極く軽く打つとインパルスが得られ平衡聴器を破壊すると消失したので、この方法により調べ、同上薬浴麻酔処理は平衡聴器の機能を犯さぬものと判断した。第 X 神經側線枝束は側線器官による求心性インパルスを伝達する線維を含む。刺激方法としては細ガラス棒で往復 2 回側線器官を一定間隔で軽く擦るか、または水の細流を同器官に噴射して行なった。同上薬浴麻酔による影響は認め難かった。

以上のように中枢へ直接入力インパルスを送り込む第 VII, VIII および X 神経束およびそれらの末梢感覚器は本薬物による麻酔処理により機能低下を示さぬものと判断された。

薬浴麻酔が嗅覚機能に及ぼす影響

全長 15 cm 位のマゴイ 2 年魚を鉛固定板で固定し、鰓半分位を通気した水中に浸して呼吸運動により鰓を灌流させながら嗅索および終脳が露出するよう開頭した。薬物処理は灌流水中の本薬物の methanesulfonate の濃度

を 100 ppm にして行なった。この際、薬液が露出した部分に接触せぬよう留意した。次いで水中より取り上げ測定を開始し呼吸運動および心拍の有無を考え合わせ種々の状況で測定を行なった。Adrian and Ludwig (1938) にならい小フック型塩化銀・銀電極で嗅索を引っ掛け、切斷して吊り上げ、頭蓋腔壁に接触せぬように固定した。前置増幅器を通じてグリッドに接続し、魚体を接地した。本実験では処理および無処理区は別々の個体により測定し、時定数は 0.3 とした。化学刺激のためには 0.1~0.3% の酢酸液をゆっくりなるべく一定速度で鼻孔皮弁前方より後方へガラス細管ピペットで注入し、嗅覚器を機械的に刺激せぬように行なった。この測定法によれば嗅覚器の化学的刺激によるインパルスは第 1 次中枢である嗅球を通って嗅索に出て来るが、本薬物の methanesulfonate の 100 ppm 1 時間で強く薬浴麻酔した標本の嗅索より導出した求心性インパルスは無処理対照区のものと大差がなかった。蒸溜水の鼻孔注入では応答は得られぬか、ごく微弱であった。そこで第 2 次中枢である終脳嗅葉から誘導した電気的応答を調べた。本薬物の methanesulfonate の 100 ppm 1 時間に薬浴麻酔した標本の終脳嗅葉表面より導出し、0.1% 酢酸液を以って嗅覚器を刺激した時の電気的応答は無処理対照区に比し減弱されているものと判断された。別の実験で薬液を新鮮水と交換することによりこの抑制は一過性であると認められた。そこでガラス毛細管により終脳両嗅葉へ

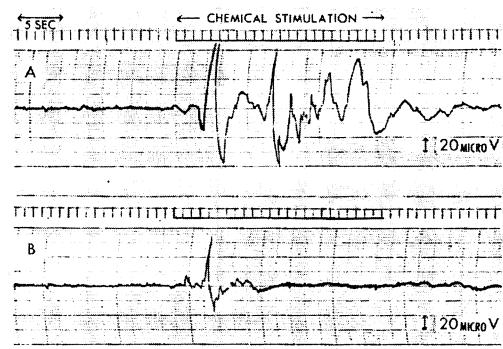


Fig. 2. Induced action potentials derived from the dorsal surface of forebrain when diluted acetic acid was introduced into the nasal pore. A: Normal. B: 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate (0.0125 ml of 30 mg/ml aqueous solution) was injected into each olfactory lobe of forebrain. Electrode: monopolar AgCl-Ag wire. Fish body was earthed. Time constant = 0.3. Negative deflection upward.

直接薬物を投与し、同一個体で嗅葉表面での応答機能を比較調査した。結果は Fig. 2 のようで明らかな機能低下を認めた。なお、この無処理対照区での応答は上述の嗅索より導出した時の電気的応答とよく類似していた。時間軸 1 単位はすべて 1 秒である。また摘出嗅索を本薬物の methanesulfonate の $750 \mu\text{g}/\text{ml}$ の液に 1 分間浸漬し、塩化銀・銀線電極よりなる電気刺激用および測定用合せて 4 本の電極にそのまままたは単一線維をむき出してのせ、その軸索活動電位を常法に従って調べたが、無処理対照区のものと類似で阻害効果は見られなかった。

本薬物による薬浴麻酔では嗅覚器より嗅球を経て嗅索までの活性が保たれているのに終脳嗅葉での嗅覚応答機能が減弱させられており、これは血流によって送られた本薬物が直接作用しているものようである。しかし高濃度の薬液を作用させた嗅索の興奮伝導性が対照と差がないので中枢神経軸索に本薬物が直接阻害作用を与えているものではないことが解る。

薬浴麻酔が脊髄の逆行性電気刺激による脳幹部誘発電位に及ぼす影響

延髓前部で反射的遊泳運動中枢を形成している Mauthner 細胞は特異な点が多いが、とくに軸索側枝性抑制機構がよく発達しており、この機構についてはワキン(和金)による古河・他(1963)の詳細な研究がよく知られている。マゴイについては詳細が未だ記載されていないので、本研究では脊髄の逆行性刺激により誘発される細胞外陰性活動電位およびこれにつづく EHP (extrinsic hyperpolarizing potential) および IPSP (inhibitory post-synaptic potential) の概要を比較調査することに止めた。

全長 14 cm のマゴイ 2 年魚を用い魚体を鉛固定板で止め通気した水中に半ば浸しつつ、延髓および小脳が露出するよう開頭し、処理区と無処理区とに異個体を用いて実験した。薬浴中開頭手術は既述例と同じく露出部に薬液が附着せぬように留意した。細ガラス棒で小脳を前方に押しやり、鉛固定板および第 2 グリッドを接地し、ガラス毛細管電極または先端 0.5 mm を残し絶縁塗装した鉄針電極を第 1 グリッドに接続し、上下しつつ移動せしめて脊髄を電気刺激して、延髓前端部内での陰性電位変動の最大点を時定数 1.5 で求めた。観測は前置増幅器および 1205 B 型増幅器を通じオッショスコープにより写真記録した。繰り返した実験で得られた結果の傾向は同じで、ガラス毛細管電極および鉄針電極による各例を Fig. 3 に示した。即ち薬浴麻酔により Mauthner 細胞の逆行性刺激に対する興奮性が減弱するように見られた。

次に以上の結果を確かめるために脳各部にガラス毛細

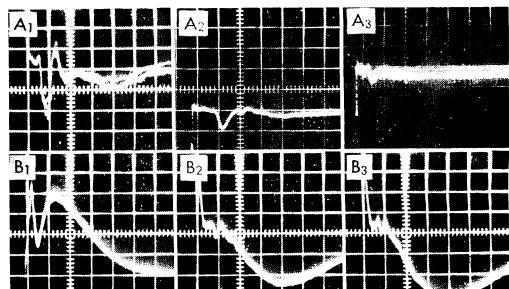


Fig. 3. Induced action potentials derived from the frontal inside of medulla oblongata of carp at normal or the anesthetized condition when spinal cord was electrically stimulated. 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate: 40 ppm immersion at 10 min. and 20 min. A: 3 M KCl glass capillary electrode. A₁: Normal. A₂: 10 min. A₃: 20 min. B: Fine iron needle electrode. B₁: Normal. B₂: 10 min. B₃: 20 min. Electric stimulation: 2 V, width = 0.2 m sec., operated by manual shock. Horizontal correction: 2 m sec./a square time scale. Time constant = 1.5. Vertical: 1 mV/a square scale. Negative deflection downward.

管で既述例同様に本薬物の methanesulfonate 溶液を注入投与し同様に逆行性刺激による脳幹部誘発電位を観測した。結果は Fig. 4 に示し条件は脚註した。ここで極めて興味あることは脳幹の測定用電極を挿入した位置に近接して本薬物を投与しても何等の抑制的影響が見られないのに、間脳下葉周辺と思われる位置に薬液を注入するとしばらくして脳幹における誘発電位がすべて減弱することである。この遠隔性の抑制の機構については本研究において明らかにし得なかつたが、ほぼ 40 ppm 前後の薬浴麻酔では先ず 20 秒位で平衡運動が消失し、その時は水の強振動(例えば水槽の乗っている卓を手で打つ)に対する鈍い反射的遊泳運動あるいは(逃避的遊泳運動)が残っており、やがて数分後に本運動性も減弱消失していくことによく一致している。また覚醒によりこの電気的特性も回復することが認められている。なお本研究においては麻酔時の順行性刺激による脳幹における誘発電位の模様については調査未了であり、今後の検討に残された。

脳幹における反射的遊泳運動中枢の興奮性は薬浴麻酔により遠隔性抑制が働き減弱消失するものであることが明らかになった。

薬浴麻酔過程における小脳脳波の消失と回復過程における再現および小脳脳波の諸統計量

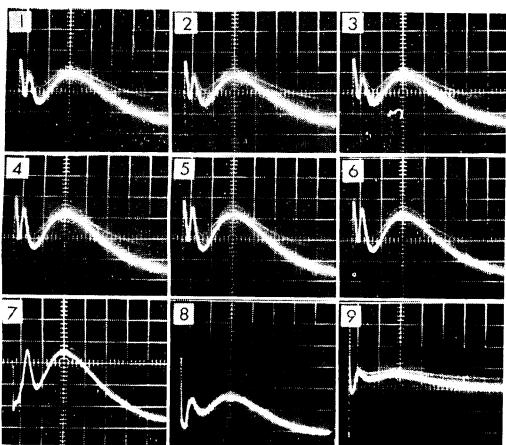


Fig. 4. Induced action potentials derived from the frontal inside of medulla oblongata of carp when 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate aqueous solution was injected into each part of the brain by fine glass capillary and spinal cord was electrically stimulated. 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate: Total 0.025 ml of 30 mg/ml aqueous solution was injected into the each brain part. 1: Normal. 2: Outside at Mauthner's cells (2 points injection). 3: Cerebellum (1 point). 4: Midbrain and optic tectum (3 points). 5: Forebrain (2 points). 6: Still standing for 50 min. after 2. 7: Normal. 8: Surrounding part of hypothalamus (4 points). 9: More 5 min. after 8. Electric stimulation: 2 V, width = 0.2 m sec., operated by manual shock. Each oscilloscopic observation was done 5 min. after injection. Horizontal correction: 2 m sec./a square scale. Time constant = 1.5. Vertical: 1 mV/a square scale. Negative deflection downward.

魚類小脳より固有の脳波を捕捉解析した研究例が見当らぬので、種々検討した結果、外径約 0.3 mm の細い同心円電極を小脳中心部に刺し双極誘導とし差動増幅回路に掛けると、見分けうる限界内の程度で検出しうることが解って来た。時定数は 0.3 とした。Fig. 5 は薬浴麻酔時の同波消失と新鮮水にもどした回復過程での出現の記録で、前実験と同様にして得た小脳露出標本に依つて得たものである。本例ではなおノイズが多いので計測系を整備し、既述のようにガラス毛細管を以って薬液を直接小脳に投与し速かに同波が消失するのを記録し得たのが Fig. 6 で、実験条件は脚註した。この記録は比較的明確に記録し得たので本川 (1951: 142) の方法により無処理対照区の 500 波を取り諸統計量を算出してみた。

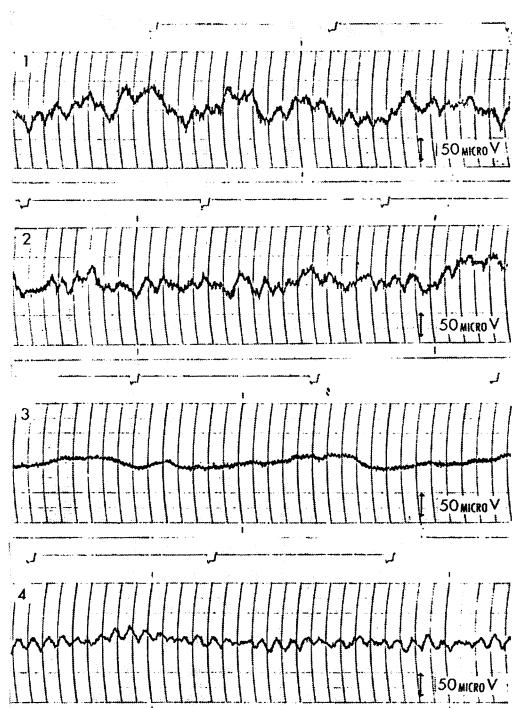


Fig. 5. Disappearance and reappearence of EEG derived from the cerebellum of carp by inhalation anesthesia and its recovering process. 2-amino-4-phenylthiazole hydrobromide: 40 ppm. 1: Normal. 2: 37 sec. after anesthesia. 3: 85 sec. after anesthesia. 4: 10 min. in recovering process. 1 sec./a time scale. Negative deflection upward. Time constant = 0.3.

平均振幅は小さく $10.3 \mu\text{V}$ 程度であるので、正確な計測がかなり難しいものであることが解る。しかし平均周期 0.06 秒、連続度 5 (通常 6 程度)、基線からの偏り 1.1 で良好な測定結果と見られる。この脳波は小脳の中心部辺りから発しているらしく、余り深く電極を入れると再び失われる。Fig. 7 にそれを示した。しかし現在のところ組織学的検討が終っていないので、細胞レベルでその位置を明確に記載することは今後の研究に残された。

薬浴麻酔で見出された最も速く消失する生体電気現象は現在のところこの小脳脳波 (16~18 Hz) であり、これはこの麻酔過程で先ず平衡運動が失われ魚体が横転することとよく一致する。

薬浴麻酔が呼吸運動筋電図 (EMG) に及ぼす影響

全長 15 cm 位のマゴイ 2 年魚を用いた。釣針型電極を鰓蓋開披筋附近に打ち込み、通気した水中より誘導し時定数 0.03 で記録した。無処理時は細目ネットペールで魚体を包むと平静時に近い EMG が得られ、同一魚体

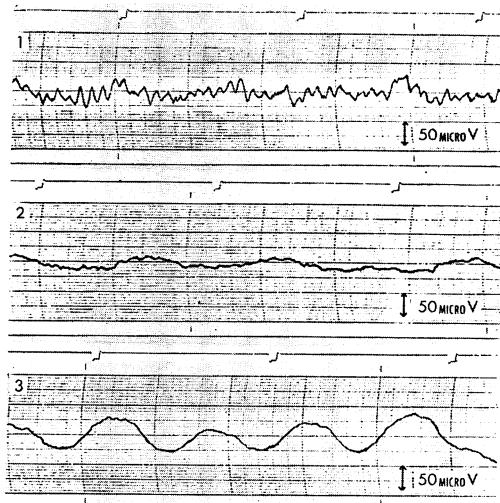


Fig. 6. EEG (spontaneous medium wave: 16-18 Hz) derived from the central part of the cerebellum of carp. 1: Normal. 2: 30 sec. after the injection of 2-amino-4-phenylthiazole (0.025 ml of 30 mg/ml aqueous solution). 3: 30 min. after the injection. Electrode: Fine concentric electrode (0.3 mm in outer diameter) used under differential amplifying system. Fish body was earthed. Time constant=0.3. 1 sec./a time scale. Negative deflection upward.

で麻酔時の記録がとれた。Fig. 8 は通気した水中より誘導した呼吸運動時の鰓蓋開披筋附近よりの EMG を麻酔時と無処理対照とで比較したもので、二つの大きい電位変動が 25 ppm 8 時間の薬浴麻酔で弱まっているように見られるが slow rhythmic changes に著明な乱れあるいは変調は認め難かった。麻酔時大きい電位変動が規則的に見られるがこれは洗滌運動に一致し比較的少ない水量で長時間放置して若干水中に浮遊物が増えたためあるいは実験によるストレスのためとも思われるがこの場合のその発現の機構については未詳である。時間軸 1 単位はすべて 1 秒である。次に 100 ppm 薬浴では 22°C 附近での耐過時間は個体差が大きく出て 20 分位から 2 時間位の間にあるが、その麻酔過程を追求することは本薬物による麻酔処理上参考となるので、薬浴に投入直後より死亡まで、また死亡直前より新鮮水に投入した時の回復経過を EMG を連続記録して検討して見た。上述と同様の実験で、EMG は舌骨下頸外転筋附近より誘導し時定数 0.03 で記録した。Fig. 9 に麻酔過程を示した。この過程では約 15 秒以内で魚体はすでに横臥し深い麻酔状態に入るが、時間の経過に従い数次にわたる slow

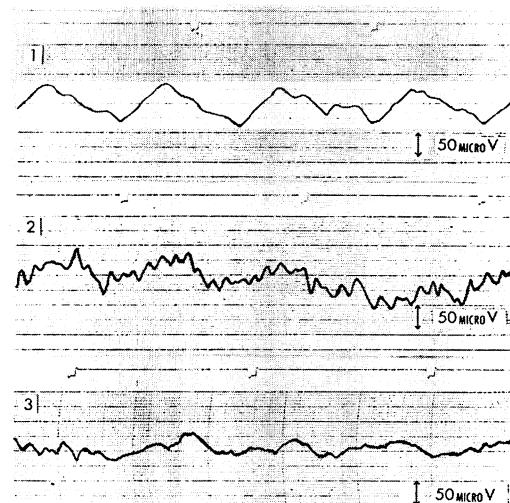


Fig. 7. Comparison of EEG derived from the different depths in the cerebellum of carp (spontaneous 16-18 Hz wave). 1: shallow position: Near from corpus cerebelli. 2: Medium position: Near from tractus mescencephalo-cerebellaris to the 4th ventricle. 3: Deep position: Near from the 4th ventricle to crista cerebellaris. Time constant=0.3. 1 sec./a time scale. Negative deflection upward.

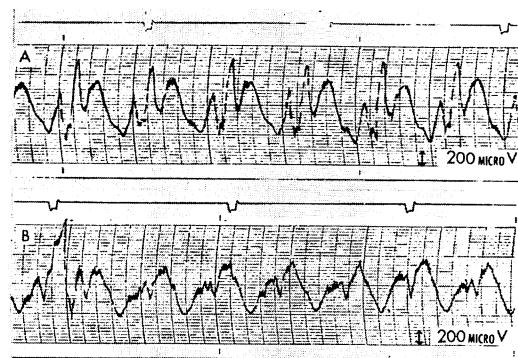


Fig. 8. EMG of breathing movement derived near from dilatator muscle of operculum (left side) of carp at normal or anesthetized condition using bipolar hook type electrodes. A: Normal. B: 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate: 25 ppm immersion at 8 hours. Time constant=0.03. 1 sec./a time scale. Negative deflection upward.

rhythmic changes でのパターン変調が見られる。終りにリップル状の振動波形が現われ振幅は次第に小さくなる。この状態ではみかけ上の呼吸運動は殆どない。次第に弱まり基線と同線になる。この平滑化した状態から覚醒させるには非常に時間がかかり、12時間位を要し回復する場合もあるが、また死に至るものもある。次に上述のリップル波が現われたところで新鮮水に投入し回復までの経過を同条件で記録したのが Fig. 10 である。投入後約 16 秒でリップル波は速波を経て消失する。次第に徐電位変動はリズム化し、myogenic spikes による棘波分裂し、呼吸運動閥与筋の運動は多角化し、終に 530 秒付近で正常に近いパターンとなった。

上述の高濃度および長時間の麻酔処理で見られる呼吸

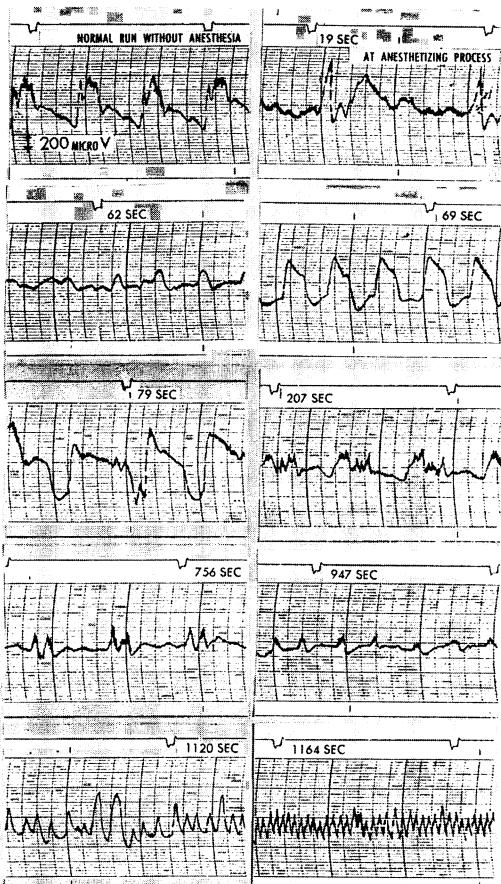


Fig. 9. Time course survey on EMG derived near from abductor muscle of hyomandible (left side) along anesthetizing process. 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate: 100 ppm immersion along over all run. Time constant = 0.03. 1 sec./a time scale. Negativedeflection upward.

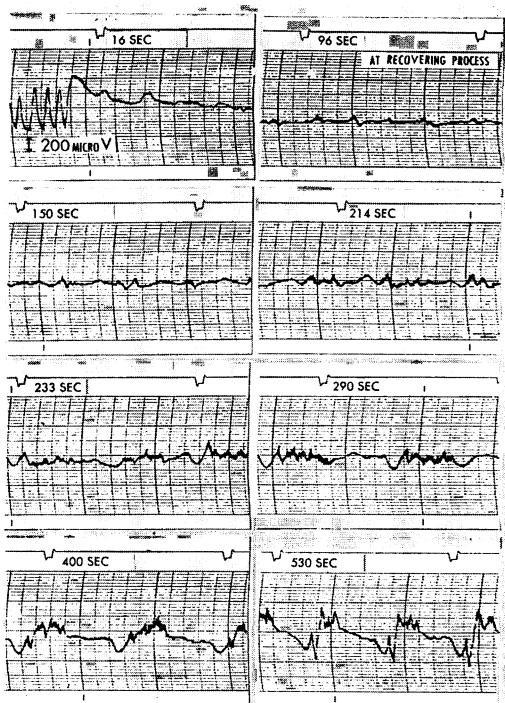


Fig. 10. Time course survey on EMG derived near from abductor muscle of hyomandible (left side) along recovering process. 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate: 0 ppm after critical treatment by 100 ppm immersion. Time constant = 0.03. 1 sec./a time scale. Negative deflection upward.

運動 EMG におけるリップル状振動波形は呼吸中枢の存在位にあたる小脳の下位に位置する延髄深部に本薬物溶液をガラス毛細管によって直接投与しても、暫時の後延髄前部から直接導出できた。即ち先端 0.5 mm 位を残して絶縁塗装した細い鉄針電極を小脳を貫いて脳橋深部に刺入し、魚体を接地して呼吸運動同調波を誘導し、上記のように薬物を投与する。Fig. 11 に脳各部より得た呼吸運動同調波と比較しつつ得られた結果を示した、なお、脳橋深部における呼吸中枢の局在、自律性、自動性、機能的構造などは尾崎 (1970: 32) により詳細が記載されているが、本研究において実験的に確かめ得たところは以下のようである。いわゆる呼吸運動同調波は脳各部で延髄深部および迷走神経葉から最も強く導出され、延髄に存在すると思われる呼吸中枢は高度にオーガナイズした構造のものであるらしく、測定用鉄針電極を挿入しただけでその周期が大きくなることがあり、また露出脳標本を水より取り上げ呼吸運動停止後 0.3 mm 同心円電極を挿入して延髄深部を電気刺激すると類似の吸気および

呼気運動が見られ、その場所はおよそ正中線に沿って左右に細長く第VII神経運動核に関連して存在するらしい。なお、上述延髓深部より導出されるいわゆる呼吸運動同調波に搬送される高速脳波が認められる。Fig. 12に示した。この高速波(200-220 Hz)も呼吸運動の停止とともに消失することが認められた。さて、上述の呼吸運動EMGは小西(1957)によりフナの鰓表面から誘導されたEMGによく類似したパターンである。呼吸運動に関与する筋は片側に13種と鰓運動に関与する筋は片側に2種があり、尾崎(1970: 21)によって詳細が記載

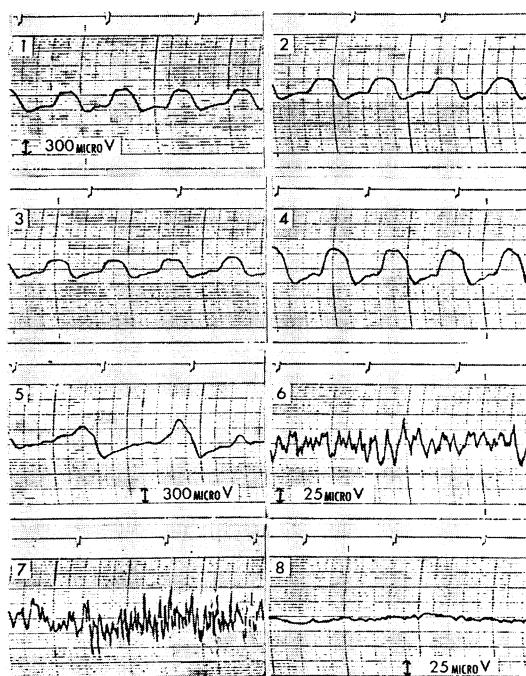


Fig. 11. EEG (spontaneous slow wave: ca. 1-3 Hz) derived from various parts of the brain of carp under breathing movement. 1: From the center part of forebrain. 2: From the inferior lobe of interbrain. 3: From the center part of cerebellum. 4: From the center part of vagal lobe of medulla oblongata. 5: From medulla oblongata (near from motor nucleus of the VII nerve). 6: 2 min. after the injection of 2-amino-4-phenylthiazole methanesulfonate (0.025 ml of 30 mg/ml aqueous solution). 7: 3-4 min. after the injection. 8: About 8 min. after the injection. Electrode: Fine iron needle electrode insulated except its apex; 0.5 mm in length. Fish body was earthed. Time constant = 0.3. 1 sec./a time scale. Negative deflection upward.

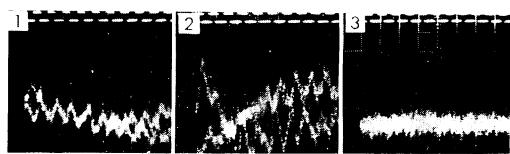


Fig. 12. EEG (spontaneous highly rapid wave: ca. 200-220 Hz) derived near from the respiratory center in medulla oblongata of carp during breathing movement. 1: At the state 5 in Fig. 11. 2: At the state 6 in Fig. 11. 3: At the state 8 in Fig. 11. Electrode: Fine iron needle electrode insulated except its apex; 0.5 mm in length. Fish body was earthed. Time constant = 0.3. Horizontal correction: 220 Hz. Vertical: 12.5 micro V/a scale. Negative deflection upward.

されている。これら関与筋の一つ一つとEMG各波群の比較同定、およびこれらの多種の筋の活動の呼吸中枢支配による順序性調節ないし呼吸運動の相の調節については今後の検討に残された。

以上の実験的事実より、本薬物による薬浴麻酔では呼吸運動EMGに影響が見られるが高濃度処理により呼吸を停止させてもなお呼吸運動に関与する遠心性神経一筋系に活性が認められるので、この呼吸運動EMGへの影響は本薬物が直接呼吸中枢へ作用し濃度に応じてあるいは軽度一過性に、あるいは高濃度長時間の作用ではその自動能を失調させ死に至らせるものと考えられる。

薬浴麻酔が呼吸による溶存酸素消費に及ぼす影響

測定に使用した容器は閉鎖型で半径7.5 cmの円筒型総水量1733 mlを用いた。ガラス製広口型3ツ口を有する摺り合せ蓋が装着出来る。一つには温度計、一つにはpolarography用白金静止電極、他一つにはcalomel電極が入る。平たい底に長さ2.8 cmで径0.6 cmのテフロンで覆ったstirrer pieceを入れ、磁気的に回転させた。容器円周を0.5 cmの正方形の洋半紙を浮動回転させて流速を目測し25.4 cm/sec位に保持した。水浴により温度を19より21°Cに保った。小形のマゴイ当才魚10匹を用いたが、その平均体重6.3 g、平均全長6.0 cmであった。上記の水流による外因的刺激のもとで、薬浴麻酔処理の有無、およびその外因的刺激のない静止時で麻酔処理のない場合につき溶存酸素消費量を比較した。溶存酸素の電解還元による電流を連続自記させたチャートより各実験区での溶存酸素消費の初速度を求め、これより得たのがTable 1の結果である。

以上の結果から外因的刺激による強度遊泳時の酸素消費量は本薬物による鎮静ないし麻酔処理によりその23よ

Table 1. Comparison of oxygen uptake due to the respiration by carp under normal or anesthetized condition.

	Experiment 1		Experiment 2	
	2-amino-4-phenylthiazole: 12.5 ppm. O_2 uptake ml/kg body weight/hr.	Ratio	2-amino-4-phenylthiazole: 25 ppm. O_2 uptake ml/kg body weight/hr.	Ratio
Vigorous swimming under agitation. (Control 1)	207	1.00	329	1.00
Stationary condition without agitation. (Control 2)	49	0.24	73	0.22
Anesthetized condition under agitation	49	0.24	74	0.23

り 24% 程度まで減じ、静止時の消費量にまで低下することが明らかになった。この静止時消費量は生命を維持するに必要な最少限度量に近いものと考えられる。

摘要および論議

上に述べた諸実験結果より、2-amino-4-phenylthiazole による薬浴麻酔時のマゴイにおける諸神経系および脳の生理状態は以下のように摘要される。

(1) 主要な遠心性神経より筋にわたる系（脊髄神経と臂鱗条拳筋あるいは胸鱗拳筋、脳神経と下顎内転筋）および主要な感覚器よりの求心性神経系（嗅覚器より嗅球を経て嗅索、網膜系と視索、顔面感覚器と第VII神経束、平衡聴器と第VIII神経束、側線感覚器と第X神経分枝）はなお活性を保持している。(2) 馬杉氏液中 35°C に培養した消化管の活動電位には直接的抑制効果はないらしい。(3) 光刺激による中脳蓋での電気生理的応答はほぼ正常さを保持しているとみられる。(4) 嗅覚器より嗅球を経て嗅索までの活性が保持されているのに終脳嗅葉での応答が一過性に低下する。これは終脳へのガラス毛細管による薬液直接投与でも認められる。摘出嗅索のインパルス伝導には直接的抑制効果がないと判断される。(5) 延髄での反射的遊泳運動中枢機能（脳幹における逆行性刺激に応答する誘発電位より判定）が一過性に低下してくると見られ、同様の機能低下は間脳下葉附近へのガラス毛細管による薬液直接投与でも観察されるが、脳幹部への直接投与では認め難く、遠隔性抑制の成立が示唆された。(6) 小脳自発波(16-18 Hz)は 40 ppm では 2 分以内に、小脳への直接投与では 20 より 30 秒で生体電気現象の中で最も速かに一過性に消失する。(7) 高濃度および長時間での臨界点においては呼吸中枢での自動能失調が起るようで、この時の発作的放電の筋

電図への反映は脳橋深部へのガラス毛細管による薬液直接投与で、延髄深部からも同様の発作的放電を直接導出して確かめることができた。結局臨界点においては中枢性呼吸麻痺が死因となると考えられる。しかしその時でも心拍動自動能は心電図よりして著明な影響を受けていないと判断される。(8) 適当深度の麻酔状態では呼吸による酸素消費は強度遊泳時の 1/4 程度となり静止時の基礎呼吸による消費にはほぼ近いと考えられる。

以上の実験的諸事実は薬浴によりマゴイを麻酔した場合の行動観察ともよく一致し、その薬浴によるマゴイ麻酔性は明らかに中枢作用性であることを示している。本薬物が中枢神経軸索に直接作用しないことと共に、過剰量による薬浴麻酔臨界点および延髄深部への薬液直接投与時特に中枢より導出される発作的放電は本薬物が中枢神経網における諸種のシナップス機能に関連して作用を現わしていることを暗示しているように思わせる。今後この中枢作用の特性について検討を加えたい。

謝 辞

本研究に当り始終御懇切なるご指導を賜り本原稿を校閲賜った東京水産大学尾崎久雄助教授に厚く感謝の意を表する。また故小西治兵衛博士の論文別刷を賜った戸友三重県庁農林水産部吉川茂彦部長並びに三重県立大学水産学部窪田三朗教授に深く感謝する。諸実験については遠山憲子氏に、魚類飼育については朝田文一氏に負う所が多い。

引用文献

- Adrian, E. D. and C. Ludwig. 1938. Nervous discharge from the olfactory organs of fish. J. Physiol., 94(3): 441-460.
Buchman, E. R. 1936. Crystalline vitamine B₁. XIV.

- Sulfite cleavage. 4. The thiazole half. *J. Am. Chem. Soc.*, 58(8): 1803-1805.
- Clarke, H.T. and S. Gurin. 1935. Crystalline vitamine B₁. XII. The sulfur-containing moiety. *J. Am. Chem. Soc.*, 57(8): 1876-1881.
- Efimov, N. I. and N. P. Bednyagina. 1945. Comparative pharmacological study of the amine components of sulfidine, sulfazole and norsulfazole. *Farmakol. Toksikol.*, 8(1): 21-24.
- 古河太郎・深見安・朝田芳男. 1963. Mauthner 細胞に於けるシナップス抑制の解析. 生体の科学, 14(3): 110-128.
- 川本信之. 1967. 循環系統. 魚類生理生態学. 恒星社厚生閣, 東京, 370 pp.
- 菊池孝彦・西尾元宏・伊藤定一郎・関沢泰治. 1971. 日本水産学会春季大会講演要旨, 235 番, p. 32.
- Konishi, J. 1957. A clue to the investigation of the control of breathing in fish by means of electrical activity in the muscle located on the regions of the gills. *Rep. Fac. Fisher. Pref. Univ. Mie*, 2(3): 347-352.
- 小西治兵衛. 1958. 魚類の網膜活動電位並びに視覚中枢誘発電位との関連性. *動物学雑誌*, 67(3): 20-26.
- 小西治兵衛. 1961. 魚類の視覚中枢の生理学的研究. 三重県立大学水産学部紀要, 5(2): 98-189.
- 本川弘一. 1951. 動植物器官の電位または電流の測定法: 脳波. 医学・生物学電気的実験法, 南山堂, 東京, 371 pp.
- 尾崎久雄. 1970. 鰓器官の構造, Fig. 14・呼吸中枢. 魚類生理学講座, 第2巻, III, 緑書房, 東京, 354 pp.
- 閑野清成. 1970. 埋込み電極による水槽中飼育魚の脳波検出法-I. 日本国水産学会年会講演要旨, 312 番, p. 17.
- Sekizawa, Y. and T. Ohashi. 1970. Amperometric surveys on photosynthetic activity of rice plant. *Sci. Rep. Meiji Seika Kaisya, Ltd.*, 11, 1-14.
- 内田亨・岡田弥一郎. 1960. マゴイ図版 11. 動物の解剖・組織・発生 2, 脊椎動物 I, 中山書店, 東京, 422 pp.
- (横浜市港北区師岡町 明治製菓(株)中央研究所 生物一室)