

[総 説]

神 經 分 泌 細 胞 の 電 気 生 理 学

Electrophysiology of the Neurosecretory Cells

石 橋 貴 昭

TAKA AKI ISHIBASHI

814 福岡市 福岡大学理学部生物学教室

1975年1月10日 受領

ホルモンの生産源としての神経分泌細胞が発見されて以来 (Scharer, E., 1928; Bargmann, 1949), この細胞が分泌活動ばかりでなく, 通常のニューロンと同じように電気的に興奮し, 伝導性の活動電位を発生するかどうか注目されるところであった。しかし内分泌機能に関するおびただしい研究の蓄積に比べ, 神経分泌細胞のニューロンとしての性質の検討はまことに少なく, 1960年代に入ってようやくこの方面の仕事が活発にみられるようになった。現在まで少くも 10 数種の動物の神経分泌細胞について検討がなされた結果, いずれも通常のニューロンに比べて幾らか持続の長い活動電位であるほかは, ほとんど変りなく, 神経分泌細胞が電気的活動を営むかどうかについては, 現在解答があたえられているといつてよい。そこで, この電気的活動と分泌物放出との関連が問題となってくる。

本稿では, これまでに報告されている神経分泌系の電気的活動について解説し, 主として電気生理学的な研究の側面から, 神経分泌細胞の性質についての問題点を考察してみたい。

1. 神経分泌細胞の電気的活動

1960年以前にも, 神経分泌細胞の電気的活動に関する検討が全く行われなかったわけではない。たとえばアンコウ *Lophius* の長い脳下垂体柄部の電気刺激によるインパルスの伝導性の検討 (Potter and Loewenstein, 1955) やウサギの視床下部内の単一ニューロンの浸透圧刺激に対する放電変化を記録することが試みられている (Cross and Green, 1959)

が, いずれもこれらの記録部位には可溶性の分泌物を含まない通常のニューロンが混在しているので, 神経分泌細胞が電気的応答をしているのかが不明確であったのである。

またセクロピア蚕の脳の自発性放電は休眠のとき失われ, しかも電気刺激にも応答しないが, 休眠の終る頃電気的活動が復活する。それに対して, 非休眠型昆虫の脳の電気的活動は変態中も一定であることから, これらは脳の神経分泌細胞の活動が示されているものと考えられていた (Van der Kloot, 1955)。その後, 同じセクロピア蚕を含む数種の休眠型昆虫では, 脳の自発性放電は休眠中も失われなとする反対の結果が出された (Schoonhoven, 1963)。これらの仕事自体興味深い問題を含んでいるが, どちらの場合も外部誘導で, 記録される放電が真に昆虫の変態制御に関与する神経分泌細胞群からのものであるかどうかの確証がなかったのである。

表1に, 一応これまでに電気的活動が記録されている主な神経分泌系がまとめて示されている。

1.1 細胞体および軸索の電気的活動

さて神経分泌細胞の電気的活動が, 細胞内記録法によって明確に示された最初の例は, 日本産ウナギ *Anguilla japonica* の尾部神経分泌細胞 (Dahlgren cell) であった (Morita et al., 1961; Ishibashi, 1962)。この神経分泌細胞は魚類の脊髄末端近くに集中して分布し, 脊髄末端部の血管壁に, 膨大した軸索末端を終らせ, 尾部下垂体 (urohypophysis) と呼ばれる neurohemal organ を形成している。

表 1. 電氣的活動の記録が行なわれた

動 物 名	神 經 分 泌 系	神経分泌細胞	末端貯蔵部	記 録 部 位	記録法
脊椎動物 哺乳類 ネズミ <i>Rattus</i>	視床下部— 脳下垂体系	視索上核 および 旁脳室核	神経性下垂体	視索上核	E
硬骨魚類 キンギョ <i>Carassius</i>		視束前核		視索上核および 旁脳室核	E
コイ <i>Cyprinus</i>				視束前核	I
日本産 ウナギ <i>Anguilla</i>	尾部神経分泌系	脊髄尾部	尾部下垂体	尾部神経— 分泌細胞 (Dahlgren cell)	E
ヒラメ <i>Paralichthys</i>					I
カワ スズメ <i>Tilapia</i>					I
軟骨魚類 エイ <i>Raja</i>					E
					I
節足動物 昆虫類 ニクバエ <i>Sarcophaga</i>	脳—側心体系	脳間部中央 および 側方部	側心体	脳間部中央 神経分泌細胞	I
クロバエ <i>Calliphora</i>				側心体 神経分泌細胞	I
サンガメ <i>Rhodnius</i>				側心体神経	E
ゴキブリ <i>Periplaneta</i>				脳間部中央 神経分泌細胞	E I I
ナナフシ <i>Carausius</i>	末梢の神経分泌系	腹部神経節	"Transverse nerve swelling"	Transverse nerve Link nerve	E
甲殻類 アメリカ ザリガニ <i>Procambarus</i>	X器官—サイナス 腺系	X器官	サイナス腺	X器官	I
クモガニ <i>Libinia</i>	囲心器官	胸部神経節お よび囲心器官	囲心器官	囲心器官の 軸索群	E
軟体動物 腹足類 アメ フラシ <i>Aplysia</i>	内臓神経節 White cells Bag cell cluster	————	神経節を包む 繊維性結合組 織の鞘	White cell 細胞体 Bag cell 細胞体	I I
環形動物 ヒル類 <i>Theromyzon</i>	食道神経節	————	Dorsal commissure	Neurohaemal area	E

表の略記

記録法 E: 細胞外 I: 細胞内

刺激法 A: 逆方向性 O: 順方向性 D: 細胞
体直接刺激 N: 神経分泌軸索の刺激
以上電気刺激

P: 生理的刺激 S: 自発性放電の記録

* 1) Bennett & Fox '62 2) Cooke '64 3) Cook
& Milligan '72 4) Dyball & Koizumi '69 5)
Dyball '70 6) Finlayson & Osborne '70 7)
Frazier et al. '67 8) Gosbee et al. '68 9)
Ishibashi '62 10) Ishibashi '66 11) Iwasaki
& Satow '69, '70 12) Jahan-Parwar et al. '69

主な神経分泌系

刺 激 法	活動電位持続時間(ミリ秒)	文 献*
A, P	2	22)
A, P	2	4), 5)
A, O, D, P	3.5	13)
A, O		14)
A, O, D	8	9), 16)
A, O, D, P	4~10	1)
A, P	15	21)
A, O, D	4~10	1)
S	5	19)
S	3~7	17)
P		18)
A, S	10	10)
A, S	5~12	8)
S	5	3)
S	3	6)
D	10	11)
N, S	5~10	2)
A, P, S	20~25	7), 12)
A, D	30~150	15)
N, S	4~8	20)

13) Kandel '64 14) Kinoshita et al. '62 15) Kupfermann & Kandel '70 16) Morita et al. '61 17) Normann '73 18) Van der Kloot '60 19) Wilkens & Mote '70 20) Yagi et al. '63 21) Yagi & Bern '65 22) Yagi et al. '66.

尾部神経分泌系 (caudal neurosecretory system) が存在する脊髄末端近くにはほかの通常ニューロンの混在はなく、生鮮材料では、分泌物の充満のため鮮やかな青白色を帯びて、細胞体 (直径 50~70 μ) および軸索の一部、尾部下垂体をはっきり認めることが出来る。すでにこの尾部神経分泌系について詳しい形態、分泌機能に関する研究が進められていた (Enami, 1955; 1959) ので、当時としては活動電位の細胞内記録に都合のよい材料と考えられるものであった。尾部神経分泌細胞の静止膜電位は -50mV から -60 mV で、細胞内に挿入された記録電極を同時に刺激電極として外向き通電をすると、 10^{-9} A の電流で脱分極しスパイク電位を発生する。脱分極の臨界値は約 10 mV では乳類や両生類の運動ニューロンのそれらと同じ程度である。活動電位には明らかなオーバーシュート (約 10 mV) がみられ、かつスパイクに引き続く過分極性の後電位は持続が 50ミリ秒以上におよび緩やかに元の膜電位にもどる。これは持続の長い電流刺激があたえられた場合一層明瞭にみられる (Morita et al., 1961)。活動電位の持続時間は 14°C から 17°C の範囲で約 8ミリ秒、同じ温度条件で記録される脊髄内の通常ニューロンでは約 1ミリ秒であるから神経分泌細胞の活動電位は明らかに長い持続時間をもっている。また神経分泌細胞の静止および活動電位は通常ニューロンのように、それぞれ外液の K^+ , Na^+ イオンに依存していることもわかった。つぎに電極が挿入された細胞体より上位の脊髄の電気刺激により EPSP, および刺激強度あるいは刺激頻度を増すことにより誘発される細胞体のスパイク電位の記録によって、初めて神経分泌細胞の神経支配が明らかにされた。なお、この際 シナプス前線維の伝導速度は 15°C で 0.6 m/sec と測定されている。この値は無髄の C 線維に匹敵する。シナプス前線維の存在は、初め Ishibashi (1962) が鍍銀法により報告したのであるが、引き続き電顕観察により確認された (Fridberg, 1963)。このシナプス前線維の起原については現在に至っても未だわかっていない。神経分泌軸索の興奮伝導性は、尾部下垂体を含む脊髄末端部の電気刺激により誘発される細胞体の逆方向性スパイクを記録することによって確認された。明らかに順方向性刺激の場合と異なった上昇相 (prepotential) をもつ活動電位を示す。以上の仕事について行われたエイ Raja, ヒラメ *Paralichthys* の尾部神経分泌細胞でもウナギの場合とよく似た結果が得られている (Bennett and Fox, 1962)。ヒラメの場合、逆方向

性スパイク電位の上昇相の屈曲がはっきり確認され、活動電位は閾値のより低い軸索成分と、より高い細胞体成分とからなっていることが認められた。また神経分泌軸索のスパイクが記録されているが、細胞体とはほとんど同じく 4~10 ミリ秒の持続時間をもつが、細胞体のスパイクと異なってアンダーシュートはみられない。この軸索の伝導速度は 1 m/sec と報告されている。ヒラメの場合、神経分泌細胞を支配するシナプス前線維の伝導速度はウナギの場合に比べてかなり速く 4.5 m/sec と測定されている。

神経分泌細胞の電気的特性について更に詳しく調べられているのは、キンギョの視束前核ニューロンである (Kandel, 1964)。この視束前核ニューロンは、細胞体の直径が平均 25μ で、淡水魚の鰓における Na^+ イオンのとり込みを促進させる後葉ホルモンの生産源として知られている。解剖学的に、細胞体は主に嗅球に由来する神経線維の連絡を受けていることがわかっている。静止膜電位は平均 -51 mV 、活動電位は平均 74 mV で、スパイクは平均 3.5 ミリ秒の持続時間をもちやはり通常のニューロンに比べて長い。スパイクの下降に続く過分極性の後電位は尾部神経分泌細胞と同じように持続時間が長い、特徴的なことはそれが二相性を示すことである。神経性下垂体からの逆方向性刺激によって起される活動電位には、尾部神経分泌細胞の場合と同様、上昇相に屈曲がみられる。この点多くの脊椎動物の運動ニューロンに類似する。神経分泌軸索の伝導速度は 0.46 m/sec で、アンコウで得られた値 (Potter and Loewenstein, 1955) に一致する。細胞体の直接刺激実験によって、1 個のニューロン全体の入力抵抗は平均 $3.3 \times 10^7 \Omega$ 、同じく時定数平均 42 ミリ秒と算出されている。嗅索 (olfactory tract) の刺激により起る EPSP は多相性を示すので、この神経分泌細胞は恐らく多くのシナプス連絡を受けていると思われる。また逆方向性刺激により IPSP が起るがその潜時はスパイクのそれより幾らか長い。このことは、視束前核ニューロンの軸索側枝がそのニューロン自体に抑制性の神経支配をしているためと考えられている。しかし軸索側枝の有無は組織学的には確かめられていない。このような回帰軸索側枝 (recurrent collaterals) は運動ニューロンやマウスナー細胞などで知られているが、神経分泌細胞では今のところ唯一の例であろう。

は乳類の神経分泌細胞では、技術的困難さの故に細胞内記録は行われていないが、微小電極による単一ニューロンの放電の外部誘導はよく試みられてい

る。視床下部から下垂体後葉にかけての経路には、後葉に神経分泌軸索を送る視索上核や旁脳室核のニューロン以外に、視床下部の他の非分泌核に由来するニューロンの軸索が混在している。また、それに視索上核、旁脳室核ニューロンの全部が全部神経分泌細胞であるわけではないので、実際に記録される放電が神経分泌細胞に由来するかどうかは、後葉からの逆方向刺激, vasopressin (ADH) や oxytocin 放出を促す生理的刺激による応答から判断されている。たとえばネズミの視索上核ニューロン (Yagi et al., 1966)、同じくネズミの視索上核、旁脳室核ニューロン (Dyball and Koizumi, 1969) についての報告によると、活動電位は持続約 2 ミリ秒であるが、外部誘導であるからそれ程正確な値ではない。なお軸索の伝導速度は 1 m/sec 前後となっている。

一方無脊椎動物のなかには、極めて大型の神経分泌細胞をもっているものが知られており、微小電極の挿入が容易なので、神経分泌細胞の基本的な性質を検討するには有利である。たとえば、海産腹足類アメフラシ *Aplysia* の内臓神経節にある直径 500μ 以上の大型ニューロンのうち、頭部寄りに位置する 11 個 ($R_3 \sim R_{13}$ と名付けられているニューロン) と尾部寄りの 1 個 (R_{14}) と計 12 個の white cell がそうである。これらの white cell は電顕レベルにおいて典型的な基本神経分泌顆粒をもち、細胞体からでている幾つかの突起は決して他のニューロンあるいは効果器にシナプスすることなく、神経節を取り巻く結合組織の鞘に入り込み、そこに neurohemal organ をつくっている。また、branchial nerve に送られている一方の長い軸索突起が、途中 neuropile のなかで他のニューロンにシナプスしているという形跡はみられないけれども、この white cell の軸索に対し、非常に少ないが他のニューロンからのものと思われるシナプスボタンが認められている。White cell がどのような生理的活性物質を放出するのか、まだそれはわかっていない。上述のように、この細胞は形態的に神経分泌細胞と同定されている。White cell はみな一様な放電頻度およそ 0.5~1/sec の規則的な自発性放電リズムをもっている。細胞体を過分極あるいは脱分極してもスパイクのリズムと一致するシナプス電位は証明されないし、神経節への求心性経路の幾つかを刺激しても放電リズムは変わらないので、細胞自体内因性の規則的な歩調取り型の活動を具えているものと考えられる。神経節のなかにあっても独立性を保っている細胞群である。スパイクの持続時間は 20~

25ミリ秒で、近くにある非分泌性の通常ニューロンの2倍ないし3倍長い持続である。これらの white cell は branchial nerve の刺激によって例外なく逆方向性のスパイク応答を示す (Frazier et al., 1967)。

Branchial nerve の末梢は嗅検器 (osphradium) に接しているが、海藻などの圧搾汁で嗅検器を刺激すると white cell の自発性放電頻度の変更がみられ、その際軸索のスパイクも記録される。このことは、white cell が化学刺激に感受性をもっていることを示しており、感覚情報が嗅検器から white cell に逆方向の伝導をしていることになる (Jahan-Parwar et al., 1969)。しかしながら、この場合逆方向性の伝導という説明には疑義がある。White cell の形態をみると確かにそのように云えるかも知れない。しかし white cell では、運動ニューロンの樹状突起に相当するところが分泌物の放出部位にあたり、長い軸索は嗅検器からの感覚情報を受取るように特殊化していると考えなければならない。したがって、機能的にはむしろ順方向性の伝導をしているとみるのが妥当と思われる。

アメフラシにはもうひとつの特異的な神経分泌細胞群がある。それらは、左右の側神経節と内臓神経節とを結ぶ縦連合の内臓神経節寄りに左右相称的に、成熟個体では直径 50μ 程の細胞約400個が集塊をつくっていて bag cell と呼ばれている。White cell の場合と同様に、おのおのの突起は他のニューロンやどのような効果器ともシナプスすることなく、神経節を包む厚い繊維性結合組織の鞘に入り込み neurohemal organ を形成している。White cell の分泌機能が未だ不明であるのに対し、bag cell の方は、最近成熟個体の ovotestis の平滑筋を収縮させることによって産卵を促すタンパク系ホルモンを分泌するという証拠が得られている (Strumwasser et al., 1969; Toevs and Brackenburg, 1969; Kupfermann, 1970)。Bag cell は -40 mV から -50 mV の静止膜電位をもっているが、通常は全く不活動で末梢神経の刺激にも応じない。しかし細胞体は直接外向き通電を受けると脱分極して最大 80 mV のスパイク電位を発生する。スパイクの持続時間は30ミリ秒から150ミリ秒で、同じ神経節内の非分泌性ニューロンのそれのおよそ5倍である。左右いずれかの縦連合を刺激すると、55分以上も続く繰り返しスパイク放電が起るが、1度放電が起れば1時間以上も不応期が続く。左右それぞれの集団のなかのすべての bag cell は正確に同調し

た電気的活動を示すし、両側の集団の間にも弱い同調性がみられる。このような電気的活動は神経節から分離された細胞集団でもみられるから、bag cell はほとんど周囲の神経節から独立した機能をもっているものと考えられる。この電気的活動の同調機構に関連して、bag cell 同志のシナプス結合あるいは介在ニューロンの存在している形跡もないので、電気的結合ではないかと考えられるが、確実な証明は未だ得られていない。また、bag cell に活動を引き起こす引き金となる刺激が何であるかも知られていない。Bag cell は内臓神経節の他の多くのニューロンに対する感覚入力とは一切無関係であるから、細胞自体の軸索のいずれかの部位に活動の引き金となるところがなければならない。このことは、神経節の縦連合への短い電気刺激によって、bag cell に長時間の放電を誘発させることが出来ることから考えられる。アメフラシの自然の放卵はもちろん個体が成熟しなければ起らないし、季節的に放卵は夏季にピークをもつリズムを示しているから、bag cell の活動の引き金となり得る刺激として、温度変化とかあるいは体液的な要因が考えられたりしている。また bag cell 自体、季節にわたる長い周期の内因性リズムをもっている可能性も考えられる (Kupfermann and Kandel, 1970; Kupfermann, 1970)。いずれにしても bag cell のユニークな電気生理的性質から、この神経分泌系は前もって蓄積された一定量のホルモンが、必要なときにすばやく放出されるように構築されていると考えられるもので、ニューロンであり内分泌細胞であるとされる神経分泌細胞の特徴がよく表われている例と思われる。

アメフラシの white cell にみられるような規則的な歩調取り型の自発性放電現象は、ザリガニ *Procambarus* の X 器官の神経分泌細胞でも観察されている (Iwasaki and Satow, 1969)。よく知られているように、X 器官は甲殻類の眼柄にある1種の神経節性の器官で、サイナス腺に軸索を送る神経分泌細胞の集合からなっている。この細胞体は直接通電に応じて持続10ミリ秒、振幅100mV 近いスパイク電位を発生する。またスパイク発生の際のイオン機構が調べられ、外液に一定量の Ca^{2+} があれば Na^{+} の濃度を変えてもスパイクの高さは影響を受けないが、 Ca^{2+} の濃度が低い場合には Na^{+} の濃度に大きく依存することから、ザリガニの神経分泌細胞の活動電位発生には Na^{+} と Ca^{2+} の2つのイオン機構が存在すると考えられている (Iwasaki and Satow, 1970)。 Ca^{2+} に関し、シナプスにおける伝達物質の

放出機構に類似して、 Ca^{2+} が neurohemal organ からのホルモン放出機構にもまた重要な役割をもっていることが最近明らかにされつつあるが、この問題は最後の節でまとめて論議する。

昆虫の神経分泌系についての電気生理的な検討はごく最近になって始められた。昆虫の主要な神経分泌系である脳一側心体系について、ワモンゴキブリ *Periplaneta* が用いられ、細胞外記録であるが側心体に軸索を送っている脳間部中央神経分泌細胞が、側心体からの逆方向性刺激に約 10 ミリ秒の持続をもつスパイク応答を示すことが明らかにされた。この実験によって、前大脳左右両半球の中央神経分泌細胞の軸索が、脳内で交叉し互いに反対側の側心体神経を経て、左右 1 対の側心体にそれぞれ入り込むという経路が電気生理的に確認された (Ishibashi, 1966)。脳間部に挿入された電極から逆方向性スパイクと共に、側心体の刺激に無関係な一定頻度の小さい放電単位も記録されている。同じくワモンゴキブリで、その後、細胞内記録が試みられたが、脳間部神経分泌細胞ではその静止電位の大きさに比べて、自発性放電も側心体の刺激による応答も、異常に小さい (Gosbee et al., 1968)。このことについて、一般に昆虫など無脊椎動物の単極性ニューロンでは、軸索を伝導するインパルスは細胞体に侵入しない (Roeder, 1963) ことから、記録される比較的小さい電位変化は細胞体にごく近い軸索起原のものと考えられている。Adiyodi と Bern (1968) はワモンゴキブリの脳間部中央神経分泌細胞が無脊椎動物一般にみられる通常ニューロンのように、細胞体から離れた位置に樹状突起や軸索側枝をもち、形態的に通常ニューロンに類似することを明らかにした。まだ脳間部の神経分泌細胞にどのようなニューロンがシナプス結合をしているか明らかにされていないが、この神経分泌細胞の形態からみて、樹状突起ないし側枝附近に発生したインパルスは恐らく細胞体に侵入せず、側心体に向う軸索に沿って伝導するものと思われる。Gosbee ら (1968) の得た実験結果を最近同じワモンゴキブリで Cook と Milligan (1972)、ニクバエ *Sarcophaga* で Wilkens と Mote (1970) がそれぞれ確認しているが、いずれも脳間部中央神経分泌細胞の自発性放電の記録からの判断である。持続 5~10 ミリ秒のスパイクと共に EPSP, IPSP と思われるような小さい電位変化が記録されている。クロバエ *Calliphora* の側心体固有の神経分泌細胞も、その自発性放電の記録から細胞体は電気的に不活性で、放電は軸索の活動によると報告されている

(Normann, 1973)。以上昆虫の脳一側心体系について行われた細胞内記録はいずれも不安定に思われる。それは自発性放電の記録の途中、スパイクの波形の変化や持続時間の変化が見受けられる (Cook and Milligan, 1972; Normann, 1973) から、電極挿入による細胞の損傷が当然考えられる。したがって昆虫の神経分泌細胞が真に自発性放電 (内因性の活動) を行っているのかどうか、その放電頻度がシナプス入力によって制御を受けるとする考え (Wilkens and Mote, 1970) もまた再検討する必要がある。

1.2 Neurohemal organ の電気的活動

さてこれまで述べてきたのは、神経分泌細胞の細胞体で記録される活動電位や軸索の伝導性の検討であったが、neurohemal organ の電気的活動はどうであろうか、これはホルモンの放出過程に関連するので関心がもたれる。Finlayson と Osborn (1970) はナナフシの 1 種 *Caraussius* に新しく見出された神経分泌系 (Brady and Maddrell, 1967; Finlayson and Osborn, 1968) を用いて興味深い報告をしている。この昆虫では腹部神経節から派生する median nerve が分枝し、腹節を横断するように伸びた transverse nerve の神経束途中に肥大部、"transverse nerve swelling" を形成する。このなかに腹部神経節の神経分泌細胞に由来する多数の分泌軸索が集合して neurohemal organ になっている。このような末梢の神経分泌系は、脳神経節における神経分泌系に比べて電気的活動の研究には有利な材料と思われる。彼等は腹部神経節から切り離れた transverse nerve で自発性放電を記録したが、この標本には細胞体が含まれていないから記録される活動電位は分離された軸索からのものである。個々の活動電位が同じ腹節にある伸張受容器の感覚ニューロンに比べて長い持続をもっていることは、これまでの神経分泌細胞で知られていることと同じである。さて標本の neurohemal organ を含む基部の方で得られた記録では、ある時間々隔でバーストが継続してみられるが、neurohemal organ を含まない末梢部からの記録にはバーストはなく僅かな放電のみみられるだけである。また丁度 neurohemal organ で得られた記録には一定間隔の規則的な放電のみみられる。これらの活動電位が分泌物の放出を伴う細胞膜の変化によって起っているのか、あるいはまた放出された分泌物によって軸索が脱分極を起した結果であるのか、云い換えると活動電位が、分

泌の原因であるのか結果であるのかはわからない。この問題については次の節で論議する。このほか neurohemal organ の神経分泌軸索の電気的活動については後に再び触れることになるが、Cooke (1964) がクモガニ *Libinia* の囲心器官で自発性放電と電気刺激による活動電位を記録した。この囲心器官の神経分泌軸索の伝導速度は $0.25 \sim 0.5$ m/sec である。

2. 分泌活動と電気的活動

これまで、さまざまな神経分泌細胞の電気的活動について述べてきたが、神経分泌細胞の電気的活動が、その分泌活動とどのような因果関係にあるのかに先づ最も関心が集るところである。問題の1つは、分泌が細胞の電気的活動のみによって起されるものかどうかという点である。これまでの色々な動物の神経分泌細胞について行われてきた電気生理学的実験から、共通する特性をひき出してみると、それは神経分泌細胞の活動電位がいずれも通常のニューロンに比べて2倍から10倍以上も長い持続時間をもっていることと、軸索が1 m/sec 前後の遅い伝導速度を示していることである。それで、神経分泌細胞では軸索末端に到達するインパルスがたとえ低頻度であっても、個々のインパルスの持続が長いから、分泌物の放出が起るのに有効なものとなっていると考えられる。しかしこのことに関し実証があるわけではない。神経分泌軸索末端の電気現象に関する研究、殊に有利な材料を用いて末端からの細胞内記録を得ることが望まれる。

神経分泌細胞の電気的活動が分泌物の放出を起すという考えを支持する間接的な証拠は多い。それは神経分泌細胞群を直接電気刺激することによって、細胞体あるいは neurohemal organ における可溶性分泌物の減少が起ることを確かめる方法である。昆虫の脳一側心体系 (Hodgson and Geldiay, 1959; Gosbee et al., 1968), 硬骨魚の視束前核の神経分泌細胞 (Jasinski et al., 1966) など、実際に電気刺激によって可溶性分泌物の減少がみられている。最近では同様な電気刺激の後、微細構造のレベルから神経分泌顆粒の消長たとえば exocytosis の現象が起っているかどうかを確認することが行われている。たとえば甲殻類のサイナス腺や昆虫の側心体 (総説 Scharrer, B. and Weitzman, 1970), 硬骨魚の尾部下垂体 (総説 Fridberg and Bern, 1968) などきわめて多くの報告がある。この種の仕事で、より確かな証拠を得ようとするならば、実際に灌流

実験によって標的器官の反応を検討しなければならない。神経分泌系のなかには、分泌物の性質や標的器官の不明確なものが多いことや、それらが既知であっても効果の現われるまでに長時間を要したり、構造的に灌流実験に向かないものがあるから、ごく限られた実例しか得られていない。たとえば、Cooke (1964) はクモガニの囲心器官と心臓をそれぞれ摘出して灌流実験を行い、囲心器官の電気刺激によって起る活動電位と心臓拍動を同時に記録した。その際、活動電位と心臓拍動促進物質の放出が同じ刺激閾値、同じ刺激頻度で起ること、灌流液の心臓に対する拍動促進効果は刺激頻度に比例することを明らかにした。これは神経分泌細胞の軸索を伝導する活動電位が、末端からの分泌物の放出を起すことを実際に示した唯一の例であろうと思われる。もう1つは、ワモンゴキブリの脳一側心体系を無傷のままにして切り離した頭部と、同じ個体の腹部から切り出した心臓とを組み合わせた灌流実験が行われ、脳あるいは側心体の電気刺激によって側心体から心臓拍動促進物質の放出されることが確かめられている (Kater, 1968)。

つぎに神経分泌細胞の分泌活動と電気的活動との関連のもう1つの問題として、動物がホルモン分泌を促す生理的刺激を受けた時に、神経分泌細胞が電気的に興奮するようになるかどうかである。それで以下述べるように、脊椎動物の視床下部一下垂体系を除く他の多くの神経分泌系では、それらの分泌を促す生理的刺激が何であるかまだ正確には知られていない。Vasopressin (ADH) の放出を促す浸透圧刺激、たとえばネコで、高張の NaCl あるいはグルコース溶液の頸動脈内注入は、視床下部の神経分泌核である視索上核のニューロンの放電頻度を増大させる。また oxytocin 放出に関係する乳頭や子宮筋の機械的刺激によって、旁脳室核ニューロンの放電頻度の増大が起る (総説 Cross and Silver, 1966)。同じような生理的刺激が電気的活動に効果を及ぼす実例は、ネズミの視索上核、旁脳室核ニューロン (Yagi et al., 1966; Dyball and Koizumi, 1969) で、また硬骨魚の視束前核ニューロンでも得られている (Kandel, 1964)。Dyball (1970) はまた、ネズミを用いて高張の NaCl 溶液を頸動脈内に注入した後、視索上核ニューロンの放電を記録しつつ vasopressin (ADH) の血中濃度を測定することによって、視索上核ニューロンが電気的に活動し、ホルモン放出が起ることを明らかにした。この場合、ホルモン放出量の検定は、上述の生理的刺激後一定

時間間隔で採血した血液サンプルを用いて行われるため、ニューロンの電氣的活動のピークに幾らか時間的に遅れてホルモン放出量のピークが現われている。

海産硬骨魚ヒラメの尾部神経分泌系では、血管内に蒸溜水が注入されるとシナプス前線維の活動が高まって神経分泌細胞にスパイク電位が起るが、高張 NaCl では効果がみられない (Bennett and Fox, 1962)。硬骨魚の 1 種 *Tilapia* では、上述のような浸透圧刺激によって、それまでの自発性放電が抑えられるものと、刺激により新たに放電を開始するものといわば抑制型、興奮型 2 種類の尾部神経分泌細胞があるといわれている (Yagi and Bern, 1965)。しかし魚類の尾部神経分泌系の機能は、Enami (1959) が最初に報告した通りの、浸透圧調節に関与しているものかどうか？ 現在でもそれが一応認められてはいるものの、最近新たに血圧上昇物質、内臓平滑筋を刺激する物質などが尾部下垂体に含まれていることが知られ (Lederis et al., 1971; Ichikawa and Kobayashi, 1973)、いずれが尾部神経分泌系の真の機能か判然としない。したがって、上述の浸透圧刺激も生理的に意味のある刺激かどうかはわからない。

無脊椎動物でも脊椎動物の神経分泌系と同様に、神経分泌細胞に対するシナプス入力が電気生理的に証明されており、神経分泌活動がさまざまな環境刺激によって影響を受けることはよく知られている (Scharrer, B. and Weitzman, 1970)。しかしそのような生理的に意味のある求心性刺激によって、神経分泌細胞の電氣的活動とホルモンの放出が起ることを実証した例はほとんどない。それは多くの場合、構造的に電氣的活動の記録が容易でも、分泌物の化学的性状や標的器官が不明確であるとか、実験条件が揃わないためである。最近の例で云へば、海産腹足類アメフラシの white cell は求心性のシナプス入力によって影響されず歩調取り型の規則的な放電を行っているが、その軸索末端が接している外套膜の受容器、嗅検器 (osphradium) への海藻や動物の圧搾汁のような化学刺激に応答して、white cell の細胞体は固有の放電パターンを変更する (Jahan-Parwar et al., 1969)。しかしこの電気現象と分泌との関係は全くわかっていない。White cell は今のところ形態的に同定された神経分泌細胞に過ぎない。これとは反対に、分泌物の性質がわかっている同じ動物の bag cell の方は、その電氣的活動と分泌活動を起させる生理的刺激が何であるか

わからない。

化学的あるいは機械的刺激以上に、しばしば神経分泌活動に及ぼす光刺激の効果が知られている。たとえばゴキブリの類 *Periplaneta* と *Leucophaea* の歩行活動におけるサーカディアンリズムで、虫の静止から活動への変化を起させる神経分泌中心の所在；脳間部か食道下神経節かはまだ決定的にはなっていないが、その分泌リズムの制御は光受容器にとらえられる光のリズムによることは間違いない。またカマキリやナナフシの生理的体色変化およびその昼夜のリズムは、後大脳の神経分泌細胞におけるホルモン分泌のリズムによるらしいが、それらは光受容器から入る光刺激により制御されている (Wigglesworth, 1970)。このような光受容器—神経—内分泌経路が、カマキリ、ゴキブリの類で最近組織学的な検討がなされている (Scharrer, B and Weitzman, 1970)。神経分泌系における情報伝達経路の解析は、これからの重要な課題と考えられる。実際に、Cook と Milligan (1970) によるとゴキブリの脳間部中央神経分泌細胞の自発性放電の頻度は光刺激によって増大するが、光受容が単眼によるか複眼によるかは明らかにされていない。

3. 神経分泌物の放出機構

前節でも論議されたように、神経分泌細胞の軸索末端における分泌物の放出は、インパルスの到達によって起る脱分極の結果と考えられる。この神経分泌物の放出過程が Ca^{2+} に依存していることは、ほ乳類の神経性下垂体で最初に明らかにされた (Douglas and Poisner, 1964a; Ishida, 1968)。体外にとり出されたネズミの神経性下垂体を用いられ、それが高濃度の K^+ を含む外液に浸されるか、あるいは電気刺激されると vasopressin および oxytocin の放出が起るが、これらホルモンの放出は外液に Ca^{2+} が存在するときだけ起る。外液の Ca^{2+} が放射性的 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ に置き換えられ、実際に神経性下垂体による $^{45}\text{Ca}^{2+}$ のとり込みが調べられたところによると、神経性下垂体が高濃度の K^+ を含む外液に浸されているあいだに $^{45}\text{Ca}^{2+}$ のとり込みが起っている。ホルモンの放出と Ca^{2+} のとり込みは、外液の Mg^{2+} の濃度が高められると抑えられる (Douglas and Poisner, 1964b)。

以上のような体外にとり出された neurohemal organ からのホルモン放出における 2 価の陽イオンの役割については、最近無脊椎動物でも報告されている。すでに前節でも述べたように、甲殻類クモガ

ニ科の 1 種 *Libinia* の囲心器官と心臓とを組み合わせた灌流実験において、神経分泌物放出の検定は心臓の拍動を指標として行われている。この際、囲心器官が浸される外液から Ca^{2+} が除去されると、電気刺激により誘発される心臓拍動促進物質の放出が、刺激されていないときの自発性放出のレベルまで減少する。しかし囲心器官から記録される活動電位の振巾は Ca^{2+} 除去による影響を受けない (Berlind and Cooke, 1968)。また外液の Mg^{2+} の濃度が正常な場合の 3.5 倍まで高められるかあるいは Ca^{2+} の濃度が正常な場合の 3 分の 1 まで減らされると、神経分泌物の放出は正常外液における放出レベルの半分以下になる。反対に Mg^{2+} の濃度が 3 分の 1 に減少するとホルモン放出は増大する。しかし Ca^{2+} の濃度が 3.5 倍に増大しても特別な効果はみられない。このような 2 価の陽イオン濃度が変わえられた条件のもとで記録される活動電位の形や振巾には変化はみられないが、伝導速度は変化する。テトロドトキシンが外液に加えられるかあるいは Na^+ が減らされると、活動電位の可逆的な伝導ブロックが起る。また正常外液の Ca^{2+} の 80% が Ba^{2+} に置き換えられると、自発的にもまた電気刺激による反応としても心臓拍動促進物質の放出が著しく増加するが、この過程には囲心器官から記録される自発性放電の増加と個々の刺激による持続的な繰返し活動が伴っている (Berlind and Cooke, 1971)。これらの観察もまた、neurohemal organ における電気的活動とホルモン放出のかかわり合いに Ca^{2+} が根本的な役割を果していることを確かめたものであり、神経分泌における 2 価の陽イオンの役割がシナプスにおける伝達物質放出の場合のそれによく類似していることを示している。

最近 Maddrell と Gee (1974) もまた、サシガメ科昆虫 *Rhodnius* と ツエツエバエ *Glossina* に新たに発見された神経分泌系を用いて、ホルモン放出における Ca^{2+} の役割の重要性を述べている。この神経分泌系の分泌中心は胸部神経節内にあり、その分泌軸索群は神経節から派生する腹節への末梢神経に送られている。それらは末梢神経の軸索群を包む神経周膜 (perineurium) の外側、神経鞘とのあいだに入り込んで neurohemal organ を形成し、そこから体液中に利尿ホルモンが放出されることが知られている (Maddrell, 1966)。彼等はこの神経分泌系における電気的活動の記録は試みていないが、末梢神経をつけたまま体外にりと出した胸部神経節を高濃度の K^+ を含む塩溶液に浸して一定時間後、

その外液をマルピギー氏管に作用させて、排出される水分量を測定するという検定法を用いた。それによると、 Ca^{2+} の 2 mM を含む標準の塩溶液中では、ホルモン放出量は最大、1 mM では最大放出量の約半分に減じ、以下 Ca^{2+} の濃度の減少とともに放出量は下り、 Ca^{2+} 欠除の条件ではほとんど放出が認められないということが報告されている。

さてこれまでは、神経分泌系におけるホルモン放出に結び付く電気現象の論議が中心であったが、つぎに神経分泌顆粒のなかに含まれているホルモン活性分子が、軸索末端かあるいは細胞体直接であるか、いずれにしてもホルモン放出部位の細胞膜をどのようにして通過するかということが問題になる。このような分泌物の放出機構は重要な研究課題のひとつであって、多くの報告がなされている (総説 Scharrer, B. and Weitzman, 1970 参照)。現在、神経分泌物放出の機構に関しまとめてみるとつぎの 3 つの見解になる (Hagadorn, 1967; Normann, 1970)。いずれも、昆虫の脳一側心体系、甲殻類の X 器官—サイナス腺系および囲心器官が用いられ、神経分泌中心あるいは neurohemal organ の電気刺激、脱分極を起させるための高濃度の K^+ イオンやアセチルコリンを作用させるなどの処理後、放出部位の微細構造変化を検討した結果に基づく仮説である。1. 神経分泌顆粒がそのまま細胞膜から押し出される。2. exocytosis あるいは “reverse” pinocytosis の過程による。その際顆粒の膜と細胞膜が融合した後、なかの物質が放出されるから顆粒を包んでいた膜成分が残って、放出部位の細胞膜沿いに Ω 型の構造がみられる。3. 神経分泌顆粒の膜から細胞質のなかに、分泌物がいったん放出されて後細胞膜を通過する。これは放出部位の細胞膜に接して、丁度シナプス小胞に類似する多数の小胞の集積があり、その近くには変形した分泌顆粒がみられるという微細構造レベルの観察に基いている。以上の仮説もホルモンの物質としての探究が、無脊椎動物の神経分泌系に比べて進んでいる脊椎動物の視床下部—下垂体系では更に詳細になる。神経性下垂体には vasopressin や oxytocin とともに、ホルモン活性をもたないタンパク neurophysin が含まれているが in vitro でこの neurophysin は特異的に vasopressin や oxytocin と結合する性質をもっているため、ホルモンの担体分子と考えられている。同じ in vitro の実験で、この結合が Ca^{2+} によって抑えられることがわかった。したがって Ca^{2+} イオンがホルモンの放出機構に大きく関係していることになる。それ

で神経分泌物の放出機構に関する3つの仮説のうち、2番目の exocytosis の場合には、ホルモン-担体の複合体として放出されてからホルモンが担体から離れなければならないし、3番目の仮説では、細胞質のなかでのホルモン-担体複合体の解離があって、ホルモン活性分子だけが細胞膜から放出されるかどうか問題になる。Exocytosis を支持する生化学的根拠がある。それは vasopressin と neurophysin が常に両者の顆粒のなかの比率が反影して、あるきまった比率で放出されるということである (Thorn, 1970)。

なお、神経分泌軸索の末端に分泌顆粒と共存するシナプス小胞の役割について、軸索末端に到達するインパルスによって先づアセチルコリンの放出が起り、ついでそれによって神経分泌物の放出が起るという考え方がある。これは視床下部-神経性下垂体におけるニューロンの微細構造と視床下部の神経分泌核およびそれからの軸索群に沿って、アセチルコリンエステラーゼの活性があるという観察結果に支えられた仮説である (de Robertis, 1964)。一方、淡水産硬骨魚の尾部下垂体に含まれるアセチルコリンの濃度は、同じ魚の脳のその100倍以上という報告がある (Kobayashi et al., 1963)。アセチルコリンが神経分泌顆粒の膜に働くのか、軸索末端の細胞膜に働くのか、またあるいは血管壁に働くのか? 神経分泌物の放出機構におけるアセチルコリンの役割に関し、近年の報告 (Thorn, 1970) によれば、神経性下垂体では、アセチルコリンは軸索末端の細胞膜に直接作用してホルモン放出を促すことよりも、下垂体における血管系の調節作用が主な役割ではないかと云われている。いずれにしても神経分泌物放出機構におけるアセチルコリンの意義は、実際のところ未だよくわかっていない。

あ と が き

本稿において、著者はさまざまな神経分泌系の電気現象に関する研究の現状を述べ、神経分泌系における刺激受容-神経-内分泌系という情報伝達の経路とホルモン放出機構の解析に力点を置いて解説した積りである。浅学のため片寄った解説であることは免れない。

最後にこの小文を故榎並仁博士の御霊前にお捧げしたい。偉大な先達であられた博士は、早くから神経分泌系の神経生理学的な研究の必要性を強調され、その成果を待ち望んでおられたが、不幸にしてその

一報も耳にされることなく、若くして他界されたことは今もって痛恨の念を禁じ得ない。ここに故榎並博士への追憶をこめて本稿をしたためたことを付記する。

原稿校閲の労をとられ、有益な御助言と御批判を賜った九州大学森田弘道教授に深甚なる感謝の意を表する。

References

- ADIYODI, K.G. AND H.A. BERN (1968) *Gen. Comp. Endocrinol.* 11: 88-91.
- BARGMANN, W. (1949) *Z. Zellforsch.* 34: 610-634.
- BENNETT, M.V.L. AND S. FOX (1962) *Gen. Comp. Endocrinol.* 2: 77-95.
- BERLIND, A. AND I.M. COOKE (1968) *Gen. Comp. Endocrinol.* 11: 458-463.
- AND ——— (1971) *Gen. Comp. Endocrinol.* 17: 60-72.
- BRADY, J. AND S.H.P. MADDRELL (1967) *Z. Zellforsch.* 76: 389-404.
- COOK, D.J. AND J.V. MILLIGAN (1972) *J. Insect Physiol.* 18: 1197-1214.
- COOKE, I.M. (1964) *Comp. Biochem. Physiol.* 13: 353-366.
- CROSS, B.A. AND J.D. GREEN (1959) *J. Physiol.* 148: 554-569.
- AND I.A. SILVER (1966) *Br. Med. Bull.* 19: 254-260.
- DE ROBERTIS, E. (1964) *Histophysiology of Synapses and Neurosecretion*, Pergamon, Oxford.
- DOUGLAS, W.W. AND A.M. POISNER (1964a) *J. Physiol.* 172: 1-18.
- AND ——— (1964b) *J. Physiol.* 172: 19-30.
- DYBALL, R.E.J. AND K. KOIZUMI (1969) *J. Physiol.* 201: 711-722.
- (1970) In: *Aspects of Neuroendocrinology*, (BARGMANN, W. AND B. SCHARRE, eds.), pp. 153-158, Springer, Berlin.
- ENAMI, M. (1955) *Gumma J. Med. Sci.* 4: 23-36.
- (1959) In: *Comparative Endocrinology*, (GORBMAN, A. ed.), pp. 697-724, Wiley, New York.
- FINLAYSON, L.H. AND M.P. OSBORNE (1968) *J. Insect Physiol.* 14: 1793-1801.
- AND ——— (1970) *J. Insect Physiol.* 16: 791-800.

- FRAZIER, W.T., KANDEL, E.R., KUPFERMANN, I., WAZIRI, R. AND R.E. COGGESHALL (1967) *J. Neurophysiol.* 30: 1288-1351.
- FRIDBERG, G. (1963) *Acta Zool.* 44: 245-267.
- AND H.A. BERN (1968) *Biol. Rev.* 43: 175-199.
- GOSBEE, J.L., MILLIGAN, J.V. AND B.N. SMALLMAN (1968) *J. Insect Physiol.* 14: 1785-1792.
- HAGADORN, I.R. (1967) In: *Invertebrates Nervous System*, (WIERSMA, C.A.G., ed.), pp. 115-124, Chicago Univ. Press, Chicago and London.
- HODGSON, E. AND S. GELDIAI (1959) *Biol. Bull.* 117: 275-283.
- ICHIKAWA, T. AND H. KOBAYASHI (1973) *Zool. Mag., Tokyo* 82: 141-153.
- ISHIBASHI, T. (1962) *Gen. Comp. Endocrinol.* 2: 415-424.
- (1966) *Zool. Mag., Tokyo* 75: 337.
- ISHIDA, A. (1968) *Jap. J. Physiol.* 18: 471-480.
- IWASAKI, S. AND Y. SATOW (1969) *J. Physiol. Soc. Japan* 31: 629-630.
- AND ——— (1970) *J. Physiol. Soc. Japan* 32: 37-38.
- JAHAN-PARWAR, B., SMITH, M. AND R. VON BAUMGARTEN (1969) *Amer. J. Physiol.* 216: 1246-1257.
- JASINSKI, A., GORBMAN, A. AND T. HARA (1966) *Science* 154: 776-778.
- KANDEL, E.R. (1964) *J. Gen. Physiol.* 47: 691-717.
- KATER, S.B. (1968) *Science* 160: 765-767.
- KINOSHITA, H., K. YAGI AND M. YASUDA (1962) *Zool. Mag., Tokyo* 71: 371.
- KOBAYASHI, H., UEMURA, H., OOTA, Y. AND S. ISHII (1963) *Science* 141: 714-716.
- KUPFERMANN, I. (1970) *J. Neurophysiol.* 32: 877-881.
- AND E.R. KANDEL (1970) *J. Neurophysiol.* 32: 865-876.
- LEDERIS, K., BERN, H.A., NISHIOKA, R. AND I.I. GESCHWIND (1971) *Mem. Soc. Endocrinol.* 19: 413-433.
- MADRELL, S.H.P. (1966) *J. Exp. Biol.* 45: 499-508.
- AND J.D. GEE (1974) *J. Exp. Biol.* 61: 155-171.
- MORITA, H., ISHIBASHI, T. AND S. YAMASHITA (1961) *Nature* 191: 183.
- NORMANN, T.C. (1970) In: *Aspects of Neuroendocrinology*, (BARGMANN, W. AND B. SCHARRER, eds.), pp. 30-42, Springer, Berlin.
- (1973) *J. Insect Physiol.* 19: 303-318.
- POTTER, D.D. AND W.R. LOEWENSTEIN (1955) *Amer. J. Physiol.* 183: 652.
- ROEDER, K.D. (1963) *Nerve Cells and Insect Behavior*. Harvard Univ. Press, Cambridge, Massachusetts.
- SCHARRER, E. (1928) *Z. Vergl. Physiol.* 7: 1-38.
- SCHARRER, B. AND M. WEITZMAN (1970) In: *Aspects of Neuroendocrinology*, (BARGMANN, W. AND B. SCHARRER, eds.), pp. 1-23, Springer, Berlin.
- SCHOONHOVEN, L.M. (1963) *Science* 141: 173-174.
- STRUMWASSER, F., JACKLET, J.W. AND R.B. ALVAREZ (1969) *Comp. Biochem. Physiol.* 29: 197-206.
- THORN, N.A. (1970) In: *Aspects of Neuroendocrinology*, (BARGMANN, W. AND B. SCHARRER, eds.), pp. 140-152, Springer, Berlin.
- TOEVS, L.A. AND R.W. BRACKENBURG (1969) *Comp. Biochem. Physiol.* 29: 207-216.
- VAN DER KLOOT, W.G. (1955) *Biol. Bull.* 109: 276-294.
- (1960) *Ann. Rev. Entomol.* 5: 35-52.
- WIGGLESWORTH, V.B. (1970) *Insect Hormones*, Oliver and Boyd, Edinburgh.
- WILKENS, J.L. AND M.I. MOTE (1970) *Experientia* 26: 275-276.
- YAGI, K., BERN, H.A. AND I.R. HAGADORN (1963) *Gen. Comp. Endocrinol.* 3: 490-495.
- AND H.A. BERN (1965) *Gen. Comp. Endocrinol.* 5: 509-526.
- , AZUMA, T. AND K. MATSUDA (1966) *Science* 154: 778-779.