

## ●興奮膜とシナプス生理学の黎明の頃 — 額縁教三先生の研究史を辿りながら —

名古屋学芸大学 久場 健司

生理学は、生命体のいろいろな機能を担う臓器の機能の究明に始まり、その機能単位である細胞の同定と構造と機能の解明へと発展し、更には、それぞれの細胞機能に関与する分子の同定に進み、最近20年間では、機能分子そのものの構造と機能の解明が進んでいる。日本生理学会が2009年に京都で主催する国際生理学会 (IUPS) に因んで、日本生理学会は、近代の日本の医学生理学の発展に大きな貢献をした7名の医学生理学者 (佐竹安太郎、田原淳、高峰譲吉、松田孝次郎、西丸和義、額縁教三、入澤宏) を選び、その伝記の冊子を英文と邦文併記にて発行し、IUPS参加者に配布することを企画している。この一環として2005-2007年の生理学会で、それぞれの研究史と人となりと逸話が日本医学者生理学者史シンポジウムとして公開された。本稿では、太平洋戦争後の混乱と喪失の中で、日本の生理学者が如何に艱難辛苦を乗り越え、独創的な研究をなし、今日の日本の興奮膜とシナプスの生理学の発展を築いたかの一端を、恩師額縁教三先生の研究史を辿りながら記してみたい。尚、敬称抜きでの記述をお許し願いたい。

### 戦後の混乱と喪失の中からの飛翔

額縁教三は、1922年2月4日福岡にて誕生し、子供時代の夏は湯布院の九州帝国大学農学部教授で生理学者でもあった父の別荘で過ごし、自然を相手とする恵まれた家庭で成長する。このことは、額縁の高潔で謙虚な性格と彼の植物に関する博識からも伺える。額縁は、1946年九州大学を卒業し、九州大学医学部の第1生理学講座の特別研究生 (後、助手) となり生理学を専攻した。

当時の日本は、経済的にも社会的にも太平洋戦争終了 (1945年) 後の混乱と喪失からの復興期で、大学の研究用の機器は皆無の状況で、生理学者は米軍の基地から放出された真空管や電気の部品を

買い集め、実験用の装置を自分で制作しなければならない状況であった。額縁は福岡市内の大濠公園の散歩中に捕らえた松カレハの幼虫の神経からインパルスの記録を行っていたが、最新の進んだ装置による実験が出来ない不満は高じるばかりであった。額縁はついに世界で優れた生理学者に手紙を出し、“日本は戦争で全てを失ったが、自分は科学をやる覇気は失っておらず、研究に対する強い意欲を維持している”ことを訴えた。彼の希望に対して受け入れるという返事をくれた数名の学者の中で、キャンベラのオーストラリア国立大学の Sir John Eccles 教授の研究室と次に米国イリノイ州立大学の神経精神研究所の Ralph Gerald 教授の研究室に加わることにした (図1)。Sir John Eccles 教授は、中枢神経系の電気生理学の偉大な開拓者であり、Gerald 教授は世界で細胞内微小電極法を G. Ling 博士と共に最初に開発した生理学者である。

### シナプスの化学伝達説の発展

1953年4月、額縁がキャンベラの空港に着いた時、彼は戦後最初旧敵国人として話題になり、報道陣の記者会見を受けた。それ以上に、額縁は、多数の日本の中心的な神経生理学者を育てた Sir John Eccles 教授の最初の日本人の弟子となったわけである。この時は、シナプス伝達が電気的か化学的かの神経生理学での大問題に決着がついた直後である。熱心な電気説の支持者であった Sir John Eccles 教授は、興奮性シナプス後電位の逆転の観察から化学説に急遽変更した頃である。額縁によれば、Sir John Eccles 教授は週に2回の徹夜の実験をするハードワーカーで、若い額縁はよくこのペースに乗り、脊髄でのレンショウ細胞を介する反回性抑制機構の発見をした (図2: Eccles, Fatt & Koketsu, 1954)。これは、運動ニューロンの分支がレンショウ細胞にニコチン性の興奮性シナ

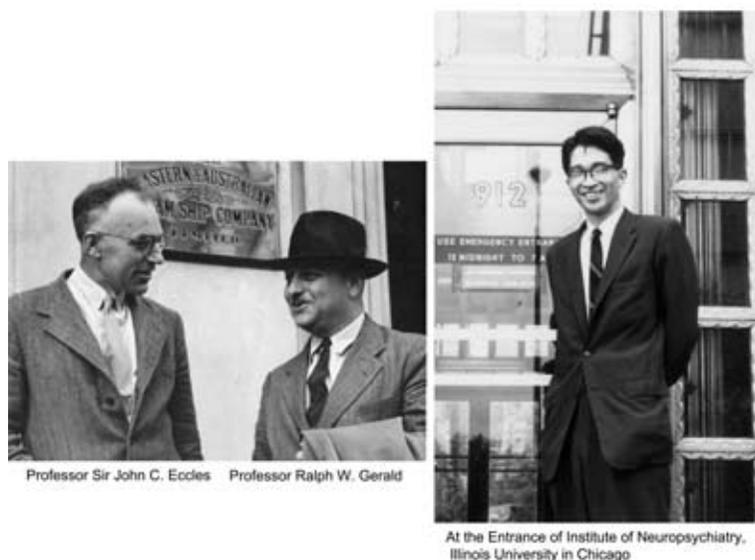
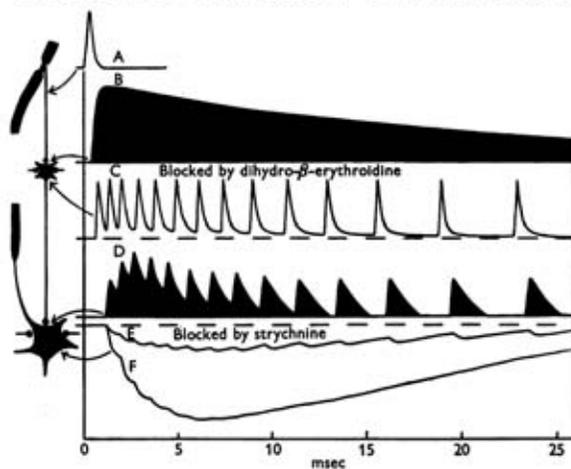


図1. 纈纈教三の恩師の Sir J. C. Eccles と professor R. W. Gerald とイリノイ大学神経精神研究所前での纈纈教三

### Recurrent inhibition via a Renshaw cell

Motoneuron → Renshaw cell → Parent motoneuron



Eccles, Fatt & Koketsu (1954) J. Physiol. 126: 524

図2. 脊髄でのレンショウ細胞での反回性抑制

プス伝達を行い、レンショウ細胞からの抑制性シナプスにより、元の運動ニューロンの興奮が抑制されるという回路で、しかも中枢神経系でアセチルコリンが化学伝達に関与することを示した最初

の証拠となった。

Sir John Eccles 教授の研究室で充実した研究の1年後、1954年4月に纈纈はシカゴのイリノイ大学の Gerald 教授の研究室グループに加わり、他の

感覚神経線維刺激により発生する脊髄神経節ニューロンの後根電位が1次感覚神経線維の脱分極によることを証明した。1955年10月、纈纈は久留米大学医学部第2生理学講座の教授に就任したが、1957年再渡米し、イリノイ大学神経精神医学研究所準教授(シカゴ)、1968年ロヨラ大学医学部教授を久留米大と併任することになり、纈纈は3ヶ月間日本で、9ヶ月間米国での二重の研究生活を1968年まで送ることになる。久留米では、卒業したばかりでその後最も重要な協力者となる西彰五郎が内科から生理学講座に来ており、長い協同研究が始まることになる。そこで、纈纈と西は、先ずカエル筋紡錘の錘内筋線維に微小電極法を応用し、動的と静的の膜特性を解析し、更に神経筋伝達の機構を詳細に調べた(Koketsu & Nishi, 1957a, b)。

この頃、日本国内では、竹内夫妻(竹内昭順天堂大教授、宣子助教授)が骨格筋終板に膜電位固定法を応用し、終板電流を記録し、陽イオン透過の機序を明らかにし、シナプス下膜電流記録の最初となった。尚、この頃ほぼ同時に、九大の大村裕(当時九大助教授、現名誉教授)と富田忠雄(当時九大助手、現名古屋大学名誉教授)も終板電流を記録し、日本生理学会会場で発表した。この時、ご両名は竹内夫妻から終板電流の論文のNature誌掲載予定を告げられ、急遽、遅筋の接合部電位の電流を記録し、Science誌に発表した(大村裕、富田忠雄退官記念誌)。

### Na<sup>+</sup>説に対する反論とCaスパイクの夜明け

纈纈は、1957年再渡米し細胞内記録の実験を行っている間、当時細胞膜の膜電位発生理論と信じられ始めたGoldman(1943)とHodgkin & Katz(1949)による定電場理論とHodgkin & Huxley(1952)による活動電位の発生機序に関するNa説に疑問を持ち始めていた。纈纈の疑問は、1965年の東京での国際生理学会でのシンポジウムでの講演に纏められている。第1に膜のイオン透過性を制御するのはどんな機構か?第2に膜電位は拡散電位か<sup>1</sup>?第3に活動電位の発生にエネルギーの供給は必要か?この疑問の根拠は、彼自身の観

察と他の研究者の実験データに基づいている。

発表前に知られていたNa<sup>+</sup>説に合わない観察は、カエルの神経線維(Lorente de N6, 1949)と甲殻類の筋細胞(Fatt & Katz, 1953)で無Na<sup>+</sup>液中で持続の長い活動電位が発生することである。纈纈は協力者と共にカエル脊髄神経節細胞に細胞内微小電極法を応用し、ヒドラジンやTEA(tetraethylammonium ion)やコリンで置換した無Na<sup>+</sup>液中で持続の長い活動電位を発生させ(Koketsu et al., 1959a, b; Koketsu & Nishi, 1960: 図3)、又、カエルの骨格筋の神経伝達が無Na<sup>+</sup>液中でも起こることを見ている(Koketsu and Nishi, 1959: 図3)。この無Na<sup>+</sup>液中での膜の特性で最も興味深いのは、膜電位が脱分極レベルと過分極レベルの二つの安定状態をとりうることである。内向き電流は前者を後者に、外向き電流は後者を前者の状態にスイッチすることを見いだした(Koketsu et al., 1959a, b; Koketsu and Koyama, 1962: 図4)。同じ頃、神経の跳躍伝導の発見や興奮伝導の機序で輝かしい業績をあげていたNIHの田崎一二もNa<sup>+</sup>説に懐疑的で、イカの巨大神経で同じ二安定状態を観察した(Tasaki, 1959)。この頃、田崎は纈纈の無Na<sup>+</sup>ヒドラジン存在下での活動電位を追試し、纈纈に電話で「出た」と一言伝えている。その後も、田崎一二は、以後Na説を認めることはなく、細胞膜の興奮は、膜が親水状態と疎水状態の二安定状態をとり、親水状態への遷移が膜興奮であるという二安定状態仮説、Two stable theory、を提唱している(Tasaki, 1968)。この田崎の研究に、日本人の俊秀(渡辺昭生理学研究所名誉教授、山岸俊一生理学研究所名誉教授、竹中敏文横浜市立大学教授(当時)、松本元理化学研究所主任研究員(当時)、井上勲徳島大学助教授(当時)他)が加わり、興奮膜の研究の発展に寄与している。

纈纈は、無Na<sup>+</sup>液中に残っているCa<sup>2+</sup>やNa<sup>+</sup>と

### 脚注

1. 非平衡の熱力学によれば、G-H-Kの式の基となるNernst-Planckの式は1塩系で、イオンフラックスが0であるときのみ成立する。更に、定電場仮説は細胞膜の構造から考えても不適切である。

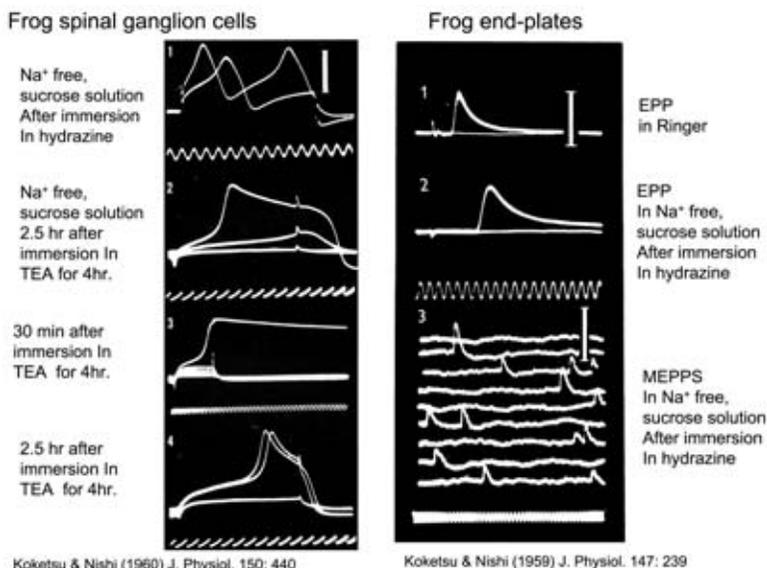


図3. 無 Na 液中でのカエル後根神経節細胞の活動電位とカエル骨格筋の神経筋伝達

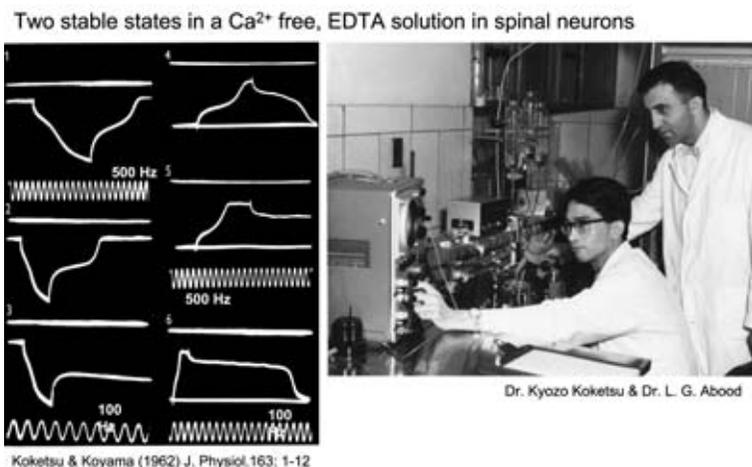


図4. カエル後根神経節細胞膜の無  $\text{Ca}^{2+}$ , EDTA 液中での二安定状態と実験室での纈纈教三と友人の Dr. L. G. Abood

置換した有機陽イオンが、 $\text{Na}^+$ の代わりに電荷担体として活動電位の発生に関与しないのかと問うているが、いくつかの理由でこれを受け入れることができなかった<sup>2</sup>。又、更に次項に述べる  $\text{Ca}^{2+}$ のいろいろな作用の特徴から、膜興奮機序として二安定状態仮説 (Two stable state theory) をしばら

く示唆することになる。しかしながら、その後、 $\text{Ca}^{2+}$ が電荷担体となって活動電位が発生することが、甲殻類の筋細胞で (Fatt and Ginsborg, 1958)、米国在住の萩原生長 (東京大学よりカリフォルニア大教授) と中によりフジツボの筋細胞で発見された (Hagiwara & Naka, 1964)。纈纈と西 (1969)

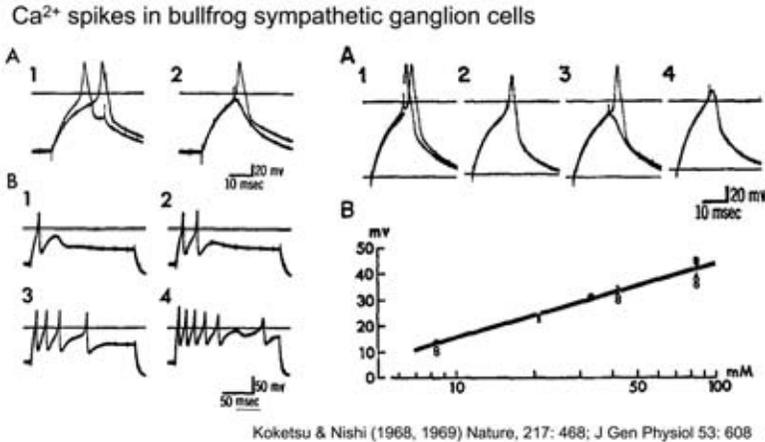


図5. ウシガエル交感神経節細胞でのCa<sup>2+</sup>スパイク

も、ウシガエル交感神経節細胞で等張のCaCl<sub>2</sub>液中での活動電位の発生を記録し、そのピークがCa<sup>2+</sup>濃度に理論的に期待される勾配で依存することから、Ca<sup>2+</sup>依存性活動電位(Ca<sup>2+</sup>スパイク)の存在を認めた(図5)。この頃、多くの細胞でCa<sup>2+</sup>スパイクの存在が明らかになる。Brading, Bülbring & Tomita (富田忠雄名古屋大学名誉教授)(1963)による平滑筋細胞でCa<sup>2+</sup>スパイクの証明、Reuter (1967)による心筋の活動電位のプラトー相生成への関与の証明がなされた。さらに、Katzのノーベル賞受賞の重要な根拠となったKatz & Milediによるシナプス前終末でのTEA存在下のCa<sup>2+</sup>スパイクとシナプス後電位の解析へと続いている。

### Ca<sup>2+</sup>仮説と細胞膜興奮での固定電荷の役割

細胞膜生理学でのCa<sup>2+</sup>の生理的役割は、Ringer (1883)以来の長い間の問題である。Ca<sup>2+</sup>の作用に関する1950年代の概念は、細胞外のCa<sup>2+</sup>の増加は膜興奮の閾値を上げ、活動電位の発生をし難くし、Ca<sup>2+</sup>の減少は逆の効果と自発性の興奮を起こすことであった。Frankenhaeuser & Hodgkin (1957)は、外液のCa<sup>2+</sup>濃度の減少がNaとKの伝導度の電位依存性が正方向へ移動させる作用を見、その説明に二つの可能性を挙げている。一つは、Ca<sup>2+</sup>は細胞膜の表面に吸着し、膜内に電場を発生し、実質的な膜電位を増加する働きがあり、もう一つは脱分極による細胞膜からのCa<sup>2+</sup>の脱着は細胞膜にNa<sup>+</sup>とK<sup>+</sup>透過の孔を作るという可能性である。

シカゴで友人との文化交流を楽しむ一方、纈纈には膜のイオン透過性制御におけるCa<sup>2+</sup>の役割に関する新しいアイデアが浮かんで来た。纈纈は、上述の無Na<sup>+</sup>液中での二安定状態の制御機構としてCa<sup>2+</sup>の役割に着目し、多くの協力者と共にこれに関する実験データをいろいろな手法を駆使して集めることに1966年頃まで全力を傾けることになる。纈纈は、Ca<sup>2+</sup>が細胞膜に吸着すること、膜興奮や無Ca<sup>2+</sup>液や高K<sup>+</sup>液によりCa<sup>2+</sup>が細胞膜から遊離されること(Koketsu, 1965参照)、無Ca<sup>2+</sup>液はNa<sup>+</sup>の透過性を8倍に増加することを観察した

#### 脚注

2. 脊髄神経節細胞で、ヒドラジンやTEAを細胞内に注入しても無Na<sup>+</sup>液中で活動電位が起こること、無Na<sup>+</sup>液中の活動電位のピークが必ずしも細胞外のこれらの有機イオン濃度やCa<sup>2+</sup>濃度にきれいに依存しないこと(Koketsu et al, 1959a, b)、ヒドラジンを注入した骨格筋では無Na<sup>+</sup>液中では活動電位は発生しない(Koketsu & Nishi, 1960)が無Ca<sup>2+</sup>液中で活動電位が発生すること(Koketsu & Noda, 1962)が、これらの有機イオンもCa<sup>2+</sup>も電荷担体になり得ないと考えた理由であった。

(Kimizuka & Koketsu, 1964). この観察に基づき、纈纈 (1965) は  $\text{Ca}^{2+}$  仮説を提唱した。すなわち、“ $\text{Ca}^{2+}$ の膜固定電荷への吸着は膜電位を過分極の安定状態へ移項させ、一方膜からの  $\text{Ca}^{2+}$ の遊離は膜電位を脱分極状態の興奮へ移項させ、 $\text{Na}^+$ と $\text{K}^+$ は $\text{Ca}^{2+}$ の結合部位で競合する”という仮説である。纈纈は $\text{Ca}^{2+}$ がどのようにイオン透過を制御するかは言及しなかったが、彼は明らかに膜表面の固定電荷により形成される界面電位が実質的な膜電位に関与し、それに対する $\text{Ca}^{2+}$ の効果を考えていた様である。この頃、萩原と高橋国太郎 (東大名誉教授) もフジツボの筋細胞の $\text{Ca}^{2+}$ スパイクが膜への $\text{Ca}^{2+}$ 吸着により制御されることを示唆している (1967)。君塚と纈纈 (1964) はイオン透過性を界面電位と膜内の電位を含む関数として定義し、定電場の仮定なしに、膜電位を表現する式を、不可逆過程の熱力学から導き出している。この纈纈の $\text{Ca}^{2+}$ 仮説は、現代の膜生理学の基本概念である $\text{Ca}^{2+}$ の膜表面でのスクリーン効果、イオンチャンネル内での $\text{Ca}^{2+}$ と $\text{Na}^+$ や $\text{K}^+$ との競合、種類の $\text{Ca}^{2+}$ 依存性イオンチャンネルの発見に繋がっている様である。

### 交感神経節でのシナプス伝達様式の種類の原型的確立

膜興奮における $\text{Ca}^{2+}$ の役割を探求している間、纈纈はシナプス伝達に対する興味を失っていなかった。纈纈は、再び西と共に昔から“小さい脳”と呼ばれていた交感神経節での実験を開始した (集大成は1986年のKarczmar, Koketsu & Nishi編の単行本参照)。纈纈と西が始める前は、交感神経節でアセチルコリン (ACh) が神経伝達物質であること、キュラーレが伝達を阻害すること、AChが節前線維の刺激により放出されること、AChがニコチンやムスカリン様の作用を持つことが解っていた。これにも関わらず、Eccles (1944) は交感神経節での電気伝達を示唆し、その娘のEccles (1952) は交感神経節のシナプス電位は筋の終板電位に似ているとのみ述べており、交感神経節での化学伝達は確立していなかった。纈纈と協力者は、ウシガエルの交感神経節で、速い

興奮性の伝達のみならず、三種の遅いシナプス伝達の発見とその機構と機能を明らかにし、これらの遅いシナプス伝達機構は、10-20年後に中枢神経シナプスでその存在が明らかになった。

速い興奮性シナプス後電位 (fast EPSP) : ウシガエル交感神経節細胞に細胞内記録法を応用し、纈纈と西 (1960) は細胞膜の静特性と活動電位を詳細に分析し、シナプス伝達が化学伝達であることを証明した。彼らは、速い興奮性シナプス後電位 (後に発見されるslow EPSPに対して、fast EPSPと呼ばれる) が、 $-10\text{mV}$ の膜電位で逆転することを示し、更に節前線維刺激により起こした活動電位のピークが直接刺激によるものより負側にあることから伝達物質による短絡効果の存在を示した (図6)。これらの研究は、英国のBlackmanら (1963) により発展され、節前線維からのAChの放出が素量であることが確立した。これらの一連の実験は、Katzとその共同研究者により神経筋接合部で明らかになったシナプス伝達の基本機序を、神経シナプスで最初に証明したことになる。さらに、纈纈は、西と副田 (1965, 1967) と共に、有髄B及び無髄C節前線維がそれぞれ有髄B及び無髄C節後細胞とシナプス結合することを示し、節前線維からのAChの放出をカエルの肺の収縮で示し、fast EPSPの素量解析と電子顕微鏡所見に基づき、単一素量内のACh分子の数を8,000-12,000個と推定した。また、纈纈は、竹内夫妻が筋終板で示したように、fast EPSPの発生には $\text{Na}^+$ や $\text{K}^+$ と $\text{Ca}^{2+}$ の透過性上昇が関与すること、蛇毒の作用からACh受容体は筋終板のものとは異なることを、協力者と共に証明した。

遅いムスカリン性興奮性シナプス後電位 (muscarinic slow EPSP) : 1966年6月、纈纈はシカゴ郊外にあるロヨラ大学医学部に神経生理の教授として新しい研究室を開設した。ここで、纈纈はシナプスに遅い伝達をする新しい機構があることを示し、その機序の解明に着手した。当時、交感神経節からの細胞外記録で、節前線維刺激により、N, P, LN波からなる複雑な電位波形が節後線維から記録されることが解っていた (Laporte & Lorente de N6, 1950, Eccles, 1952)。N波は、ACh

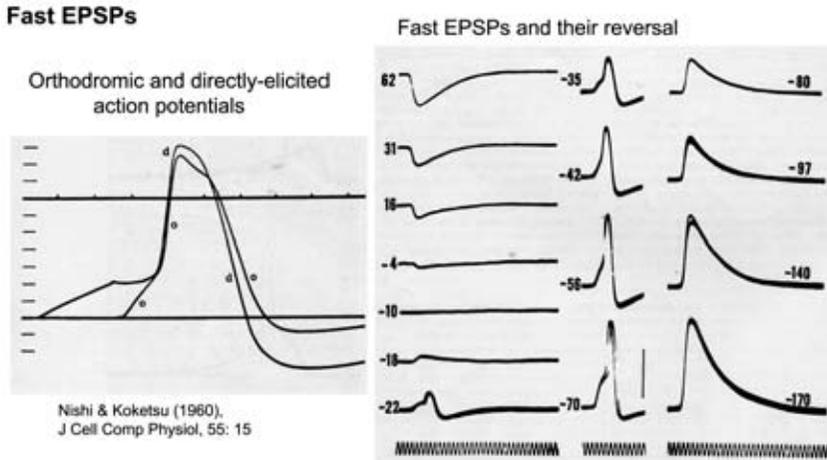


図6. 交感神経節細胞の速い EPSP

のニコチン作用により発生し, fast EPSP に対応し, P と LN 波は ACh のムスカリン作用により発生することが解っていた (Eccles and Libet, 1961). LN 波は, Libet によりその遅い時間経過から, 遅い EPSP (slow EPSP) と命名され, 西と額頤により節前線維刺激により節後線維の後発射 (興奮) に関与することが解った (Nishi & Koketsu, 1968a).

額頤と西らのグループと Libet (カリフォルニア大教授), 登坂恒夫 (東京医科大学教授 (当時)), 小林春夫 (東京医科大学助教授 (当時, 後, 教授)) らのグループは势力的に実験を行なった. slow EPSP は長い潜時と遅い時間経過を持ち, 発生中の膜抵抗の変化 (増加または減少) や振幅の膜電位依存性 (過分極により増大または減少) において, fast EPSP とは大きく異なる特性を持つことが解った<sup>3</sup>. Weight & Votava (1970) は, 膜抵抗の増加に着目し,  $g_K$  不活性化 (小林と Libet が最初示唆し後否定) が slow EPSP の機序であること

を提唱した. このイオン機序の混乱下で, 額頤と久場 (1976) は, slow EPSP 及び ACh のムスカリン性脱分極の振幅の電位依存性と膜抵抗変化に3種のタイプがあることを観察し, これは  $Na^+$  と  $Ca^{2+}$  の透過性の上昇と  $K^+$  の透過性の減少の二つのイオン機序が異なる程度に関与することを明らかにした (図7). 更に, 額頤と赤須と Gallagher 夫妻 (1984) も, 膜電位固定下でこの機序を証明した.  $K^+$  の透過性減少の機序は, 後に Brown & Adams (1980) による膜電位固定法応用による M-電流, 電位依存性時間非依存性 K 電流の発見に繋がった. slow EPSP の遅い時間経過の機序はまったく不明で, 額頤ら及び小林らは代謝阻害剤の作用から slow EPSP の発生に代謝が関与することを示唆した (Kuba & Koketsu, 1978 参照).

この交感神経節で確立した slow EPSP とその発生機序は, 多くの中樞神経細胞での slow EPSP の発見へと発展し, そのイオン機序も同様であることが明らかになった. このように, slow EPSP は, 古典的な速い伝達とは異なる一つのシナプス伝達様式で, その機能はシナプス前線維の反復活動を蓄積し, 遅れてシナプス後ニューロンに持続的にその情報を伝達する役割を担うという概念が確立した. この機構は, 後に代謝依存型受容体による伝達機構として確立することになる.

遅いムスカリン性抑制性シナプス後電位 (mus-

脚注

3. slow EPSP は膜抵抗の増加を伴ったり減少をともなったり, 又振幅も過分極により大きくなったり, 小さくなったり示し, その特性は細胞により大きく異なった (Nishi, Soeda & Koketsu, 1969; Libet & Kobayashi, 1969).

## Ionic mechanism of slow EPSP

## Combination of two types of conductance changes

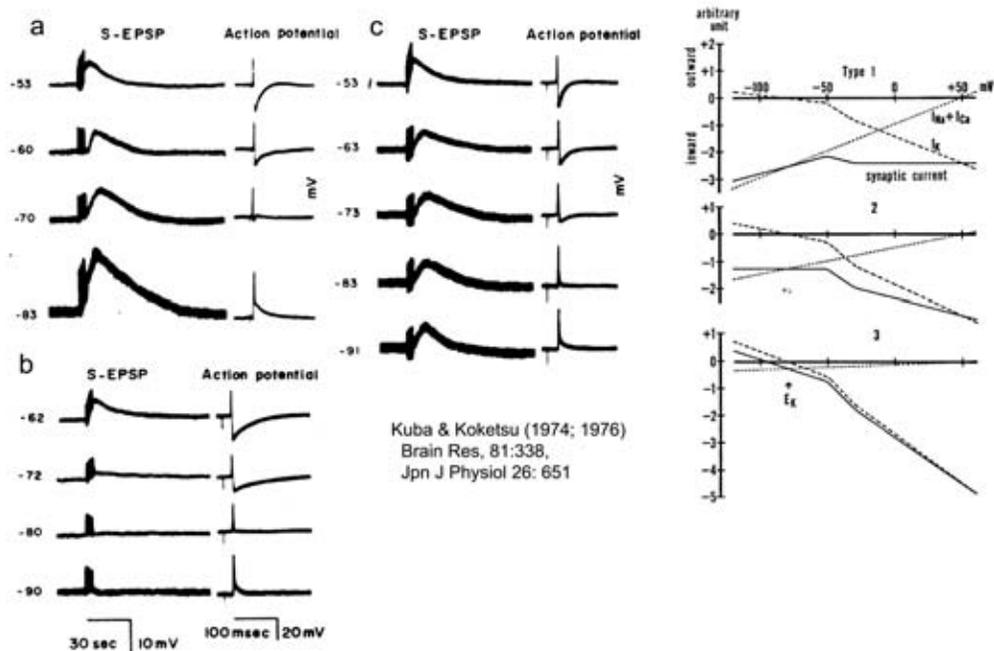


図7. 遅い EPSP のイオン機序

carinic slow IPSP) : Libet (1967) は, slow IPSP と名付けられた P 波に 2 シナプス性の発生機序を提唱した. すなわち, 節前線維から放出された ACh がクロマフィン細胞上のムスカリン性 ACh 受容体を活性化し, そこからカテコールアミンを放出させ, C タイプの節後細胞に slow IPSP を発生させるという仮説である (Tosaka et al., 1968 ; Libet & Kobayashi, 1969). 実際, Kobayashi & Libet (1970) は, ノルアドレナリンによる過分極を見ている. 額額と西(1967a)は, この slow IPSP が節後線維の後発射を抑制することを示した. 更に, 彼ら(1967b, 1968)は, slow IPSP が活動電位の後電位が消失する膜電位でも発生し, 複雑な抵抗変化を示すことから<sup>4</sup>, 単純なイオン透過性変化による発生ではないことを考えていたが, 最も重要な slow IPSP の特性としてその振幅が Na ポンプの阻害剤であるウアバインにより減少し,  $Na^+$  の細胞内への負荷により増大することを発見した(Nishi & Koketsu, 1968b). このことから, 額

額と西は, slow IPSP は起電性 Na ポンプの活性化によることを提唱した. これに対して, Horn & Dodd (1981) は, slow IPSP は C-タイプニューロンのみで単シナプス性に発生し,  $g_K$  の活性化による機序を示唆した.

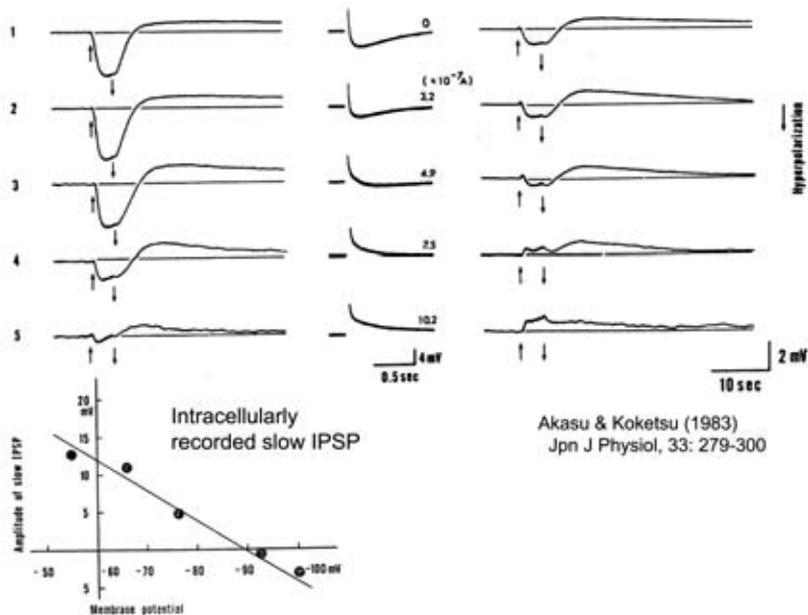
この Horn & Dodd の論文を受けて, 額額と赤須(1983)は, ウシガエル交感神経節で細胞外記録と細胞内記録の両方で詳細な解析を行い, ウアバインによる slow IPSP の抑制があること, 活動電位の後電位が消失する膜電位 ( $E_K$ ) で slow IPSP が逆転しないことを確認し, ウアバイン存在下では slow IPSP の  $E_K$  での逆転することを観察した(図

## 脚注

4. Kobayashi & Libet (1968) 過分極により slow IPSP の振幅の増加と無変化を見た. 額額と西は, slow IPSP の振幅が脱分極により減少し, 過分極より増大し, 活動電位の後電位から同定された  $E_K$  で逆転しないことを見た(Koketsu & Nishi, 1967b ; Nishi & Koketsu, 1968b).

**Combination of two ionic mechanisms for slow IPSP**

The electrogenic Na<sup>+</sup> pump activation and the g<sub>K</sub> activation  
(ouabain-sensitive and ouabain-insensitive components)



Akasu & Koketsu (1983)  
Jpn J Physiol, 33: 279-300

図8. 遅い IPSP での二つのイオン機序の組み合わせ

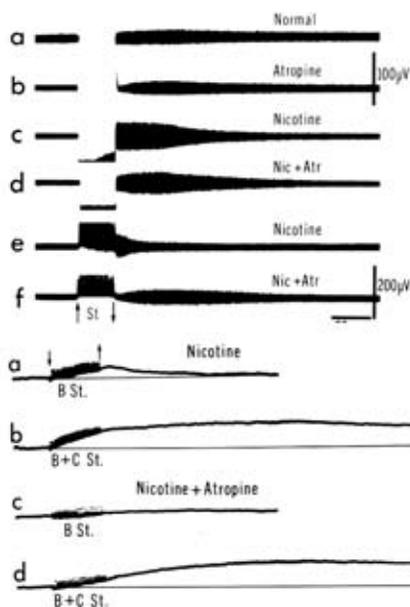
8). このことから、彼らは、slow IPSP がウワバイン感受性の起電性 Na ポンプの活性化による機序とウワバイン非感受性の g<sub>K</sub> の活性化による機序の組み合わせにより発生することを結論づけた。更に、彼らは、slow IPSP は B タイプと C タイプの両方のニューロンに発生することを証明し、長い論争に決着をつけた。しかしながら、slow IPSP が単シナプス性か 2 シナプス性かについては、未解決である。

遅発性の遅い興奮性シナプス後電位 (late slow EPSP) : 節前線維刺激による節後線維の後発射の実験をしている際に、纈纈と西 (1966) は節前線維刺激強度が最大の時には後発射の後半の部分がアトロピンにより抑制されず、むしろ増大されることを発見した。この後発射の遅い成分は、LAD (late afterdischarge) と命名し、これに対し、前半のアトロピンにより抑制される成分を EAD (early afterdischarge) と命名した。更に、纈纈と

西は LAD が C-タイプの節前線維の刺激のより発生することを証明し、LAD を発生する持続の長い細胞膜の脱分極電位を記録し、late slow EPSP と名付け、C-タイプの節前線維終末から放出される ACh 以外の神経伝達物質により発生すると結論した (Nishi & Koketsu, 1968a : 図 9)。この発見以来、他のニューロンにも同様の非 ACh 性の late slow EPSP が発見され、その多くがペプチド性伝達であることが明らかになる。

纈纈と西は、いろいろな神経伝達物質の阻害剤を投与し、非 ACh 性の伝達物質の同定を試みたにも拘わらず未解明に終わったが、片山と North (1978) が腸管内神経節の late slow EPSP の伝達物質が substance-P であることを示唆した。遂に、Jan, Jan & Kuffler (1979) が LHRH 様のペプチドがウシガエル交感神経節の late slow EPSP の伝達物質であることを、その存在、脱分極作用、刺激による放出と除神経による消失から証明した。

## Discovery of Late slow EPSP



Nishi & Koketsu (1968)  
J Neurophysiol, 31: 109

## Characteristics of late slow AEPSP

- 1) Extremely slow time course
- 2) blocked by neither nicotine nor atropine (noncholinergic)
- 3) Requires the preganglionic repetitive C-fiber stimulation
- 4) Peculiar voltage dependence and conductance changes like those of the slow EPSP

## Answers

Transmitter: LHRH

Jan, Jan & Kuffler (1980)

Proc Natl Acad Sci USA, 77: 5008

Ionic mechanisms: Combination

of two mechanisms;

$g_{Na(Ca)} \uparrow$  and  $g_K \downarrow$  (Same ion channels as those of slow EPSP)

Katayama & Nishi (1982)

J Physiol, 333: 305

図9. 後発性遅い EPSP の発見

このことから、C-タイプの節前線維終末は、その興奮により2種の伝達物質、AChとLHRH類似物質を放出することが解った。更に、興味深いことに、late slow EPSPはslow EPSPを発生する機序と同じ機序で発生することが明らかになった(Katayama and Nishi, 1982)。

## 神経伝達物質のモジュレーション作用

1968年12月、纈纈は、13年間の米国と日本の二つの研究室での活動に終止符を打ち、ロヨラ大の研究室を西に引継ぎ、久留米大の生理での研究に専念することになった。1975年、西も久留米大のもう一つの教授に招聘され、ロヨラ大の研究室はスコットランドのAberdeen大から来ていた西の協同研究員であったR. A. Northが引継ぎ、ここに多くの久留米大の若者が留学することになる。このようにして、久留米大とロヨラ大(A. G. KarczmarとR. A. North)、スコットランドのAberdeen大(G. Lees)、アルメニアの生理学研究所(V. I. Skok)、米国のM.I.T.及びOregon大(R.

A. Northの後の転出先)との協同研究は大きく発展することになる。纈纈が久留米に落ち着いた後、多くの若者が纈纈の名声と人柄を慕って纈纈の研究室に入った。纈纈は久留米でユニークな遅いシナプス伝達の研究を続けたが、この研究の中から神経伝達物質の作用に関する新しい概念が浮かび上がって来た。それは、神経伝達物質のモジュレーション作用である。纈纈は1974年の総説で、“伝達物質は、化学的興奮膜のみならず電気的興奮膜にも作用し、受動的なイオン透過のみならず能動的なイオン透過を制御する”という仮説を提唱している(Koketsu, 1984; Koketsu & Akasu, 1985: 図10)。纈纈は、彼の二日市温泉脇の潇洒な自宅での庭いじり、教室員との毎月のボーリング大会など楽しみながら、多くの若い協力者と共に、この仮説を証明する実験データを得るべく全力を注いだ(集大成は1986年のKarczmar, Koketsu & Nishi編の単行本参照)。

細胞膜興奮のモジュレーション：この発想は、纈纈の観察に基づいている。この発想のスタイル

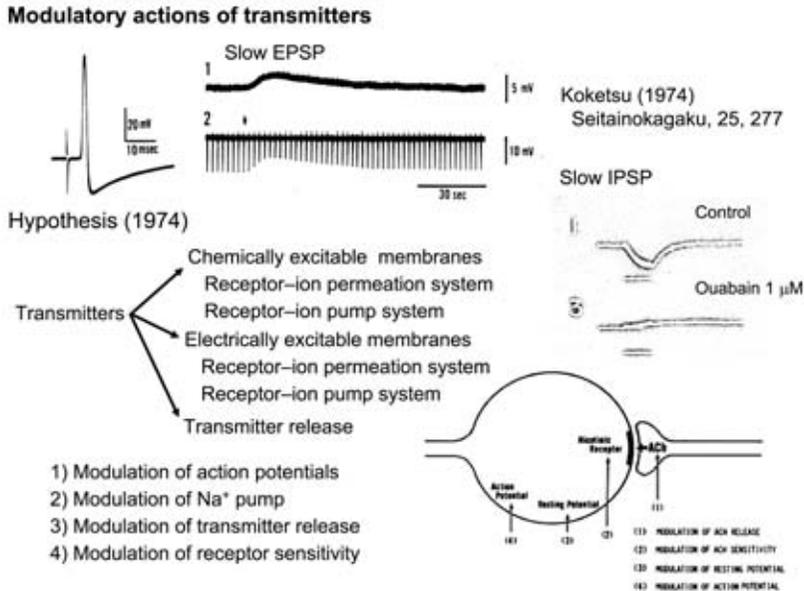


図 10. 伝達物質のモジュレーション作用

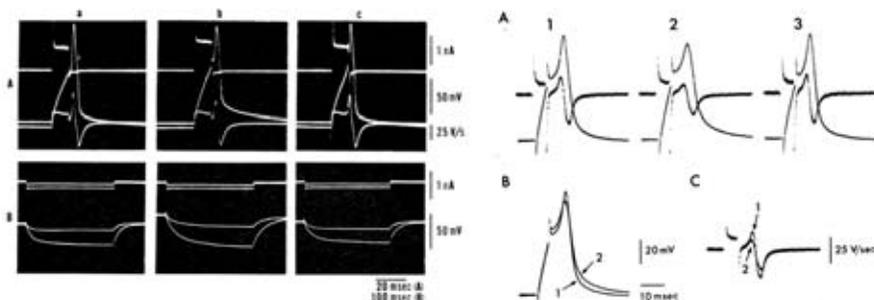
は、久留米の研究室の壁に貼ってあった“真実は、書にあらず、師にあらず、実験動物にあり”という瀬藤の研究哲学である。瀬藤は、ウシガエル交感神経節細胞の遅いムスカリン性の ACh による脱分極を内向き通電により静止レベルに戻した状態下で、活動電位の後電位が抑制されていることに気づき (Koketsu, 1974), 活動電位の特性を詳細に解析し、活動電位のスパイクの立ち上がり立ち下がり速度、ピーク、後電位が減少されることを観察した (Kuba & Koketsu, 1975, 1976). 更に、等張 CaCl<sub>2</sub> 溶液中で発生させた Ca<sup>2+</sup> スパイクの立ち上がり立ち下がり速度に同様の効果を見、また脱分極の後電位が増加することを見た (図 10). このことから、ムスカリン性の受容体の活性化は、活動電位の発生に関与する g<sub>Ca</sub> と g<sub>K</sub> の活性化を抑制することを示唆した. (尚、この研究の論文を上述の slow EPSP の論文と共に J. Physiol. に投稿したところ、「大変興味深いが、全細胞膜が均一に静止レベルに保持されるには、細胞内電極の先端が細胞質の中心にある必要がある。」という乱暴なコメントが戻り、Jap. J. Physiol. に投稿した経緯がある。現代では、樹状突起が伸びた中枢神

経細胞での膜電位固定の実験が当たり前 (前の状況を見ると隔世の感がある。) さらに、瀬藤と箕田 (1975, 1977) は、アドレナリンが Ca<sup>2+</sup> スパイクに同様の抑制作用があることを発見した (図 11). 更に、これらのムスカリン様作用とアドレナリンの g<sub>Ca</sub> に対するモジュレーション作用は、膜電位固定による Ca<sup>2+</sup> 電流を記録することにより証明された (Akasu & Koketsu, 1982; Koketsu & Akasu, 1982). 瀬藤が見た活動電位後電位のムスカリン様作用による抑制は、後にその後電位に関与する Ca<sup>2+</sup> 依存性の K<sup>+</sup> 電流, I<sub>AHP</sub>, に対する作用であることが解った (Goh & Pennefather, 1987). 瀬藤は、協力者と共に、ATP や substance-P が同様のモジュレーション作用を示すことや、ウシガエル心筋に対するムスカリン様作用が脱感作することを示している (Koketsu, 1984 参照). 瀬藤らによる交感神経節での活動電位のモジュレーション作用の発見後、多くのニューロンで、多くの伝達物質が Ca<sup>2+</sup> 電流や K<sup>+</sup> 電流に対してモジュレーション作用を示すことが発見されて、今や神経細胞生理学の重要な研究テーマとなり、細胞レベル分子レベルで詳細に分析されている。

## Modulation of ion channels involved in action potentials in bullfrog sympathetic ganglia

Modulation of  $\text{Ca}^{2+}$ -spikes by muscarinic action of acetylcholine and adrenaline

(Suppression of  $g_{\text{Ca}}$  and  $g_{\text{K}}$ )



Kuba & Koketsu (1975, 1976),  
Brain Res, 89: 166; Jpn J Physiol 26: 703

Koketsu & Minota (1975), Experientia, 31: 822  
Minota & Koketsu (1977), Jpn J Physiol 27: 353

図 11. 活動電位に関するイオンチャンネルのモジュレーション

起電性  $\text{Na}^+$ ポンプのモジュレーション：この発想は、ウシガエル交感神経節細胞の slow IPSP のイオン機序に基づいている。slow IPSP の伝達物質であると考えられるアドレナリンの起電性  $\text{Na}^+$ ポンプに対するモジュレーション作用が調べられた。交感神経節に蔗糖隔絶法を応用し、アドレナリンは  $\alpha$ 作用を介して交感神経節の細胞膜を過分極し (Akasu & Koketsu, 1976)、アドレナリンによる過分極が無  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Li}^+$ 液やウアバインや低温により抑制されるので、纈纈はアドレナリンによる起電性  $\text{Na}^+$ ポンプの促進作用を示唆した (Koketsu & Nakamura, 1976)。同様に、纈纈は  $\text{Na}^+$ を負荷した交感神経節細胞で、セロトニン (5-hydroxytryptamine) もウアバイン感受性の過分極作用を示すことを見いだした。これらの伝達物質による起電性  $\text{Na}^+$ ポンプ活動の促進作用は、無  $\text{K}^+$ 液中に長時間保存した交感神経節細胞で発生するウアバイン感受性  $\text{K}^+$ 活性化過分極電位<sup>5</sup>に対する促進作用からも証明された (図 12)。

纈纈らは、交感神経節細胞、内臓神経線維、骨格筋細胞での ATP による起電性  $\text{Na}^+$ ポンプ活動の促進作用、さらに Ach の非ニコチン、非ムスカリン様作用によるウシガエル心房筋での起電性  $\text{Na}^+$ ポンプ活動の促進作用、更にウシガエル心房

筋で ACh のムスカリン様作用により活性化された  $\text{K}^+$ 電流による起電性  $\text{Na}^+$ ポンプの活性化による膜の過分極機構も発見した。

シナプス前性のモジュレーション：アドレナリンが交感神経節で伝達物質の放出を抑制することが以前から解っていたが、纈纈らはその抑制作用を確認し、更にアドレナリンを除いた後に長時間続く促進作用があることを発見した (Kuba et al., 1981)。更に、纈纈らは、カテコールアミンが節細胞からその膜興奮により放出されることを発見し (Suetake et al., 1981)、これはシナプスでの抑制と促進作用及び節後神経刺激により起こる節前線維終末からの ACh 放出の抑制をよく説明するといえる。又、纈纈らは、交感神経節シナプス終末での ACh 放出に対する GABA の抑制作用、節前線

脚注

5. 無  $\text{K}^+$ 液中に長時間保存した交感神経節細胞に正常リンガー液を加えて発生させた過分極電位。ウアバインその他の  $\text{Na}^+$ ポンプ阻害剤で過分極電位は脱分極に変わる。無  $\text{K}^+$ 液中で、 $\text{Na}^+$ ポンプが停止した状態で、 $\text{K}^+$ を加えると、起電性の  $\text{Na}^+$ ポンプが活性化されることにより発生すると言える (Akasu & Koketsu, 1976; Koketsu & Shirasawa, 1974)。

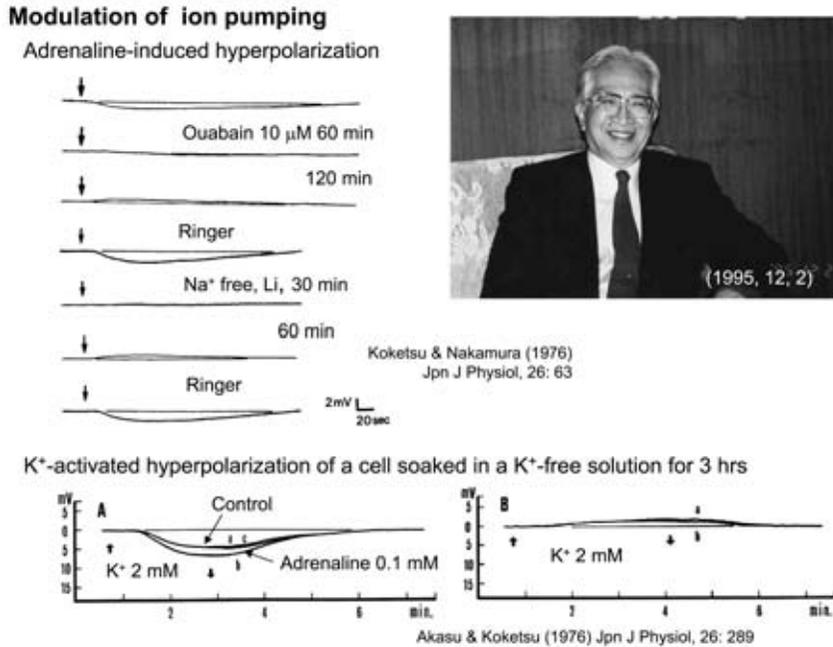


図 12. イオンポンプのモジュレーションと久留米大学学長当時の瀬藤教三

維に対する ACh のニコチン様及びムスカリン様作用を発見した。ニコチン様作用は、節前線維を脱分極し (Koketsu and Nishi, 1968) その興奮性を上げ、ムスカリン様作用は終末からの ACh 放出を抑制することを発見した。更に、瀬藤らはセロトニンやヒスタミンが低濃度では ACh 放出を促進し、高濃度では抑制することも見いだした (Koketsu et al., 1991 参照)。

シナプス下膜の ACh 感受性のモジュレーション：瀬藤らは、カテコールアミン、セロトニン (Akazu & Koketsu, 1986), LHRH, substance-P, ヒスタミンが ACh 感受性を抑制することを発見し、その作用様式は ACh 受容体の ACh 結合部位での競合性阻害とそれ以外の部位に作用する非競合阻害作用に分けられることを示唆した (Koketsu & Akazu, 1985)。又、瀬藤らは、ヒスタミン、セロトニン、アドレナリンが GABA 受容体の感受性を増加することも示した (Koketsu, 1984)。

おわりに

瀬藤は、1982 年医学部長、1984 年久留米大学学長に選出され、キャンパス新設計画に関する大きな問題を解決し、遺伝子及び分子科学の研究の発展には理学部系統の人材の必要性を感じ、生命分子科学研究所を設立し、更に、五つの新しい学部、研究科、研究所を設置し、異例の三期 12 年の学長職を務めた。瀬藤は、研究の場のみならず管理職においても、周りの人に絶えずにこやかな表情を見せ、苦渋の表情は殆ど希であった。瀬藤のモットーである“研究と人生はロマンである”を貫いていると言える。

この稿を執筆するにあたって感じたことは、ひとつの真理に到達するには数々の紆余曲折があり、現代の知識と概念で当時の実験結果の解釈と方向付けの判断を評価することはできないということである。また、ある学説が確立するまでには、反対する学説の出現によりその反証のための多くの実験がなされ、その学説が確たるものとなることも解る。生理学は生命現象を示すブラックボックスの中身を明らかにする学問であった。個体の

行動, 筋収縮, 細胞の電気信号などの生体の信号を指標として, 臓器や細胞で起こっている仕組みを類推していた。最近では, 機能分子の同定と機能の解明が明らかになるにつれ, 既知の分子の特性から細胞や臓器や個体の機能に結びつける研究が主流となっている。しかし, 多くの未知の分子が存在することは否定できず, 生理学の王道であるブラックボックスの探求という謙虚な姿勢を忘れてはならないと思う。最近, 社会への情報発信において, その分子とある生体機能の関連がわかっただけで, 全てが解ったという発信がなされる風潮があり, 残念に思う。

### 文 献

1. Akasu, T., Gallagher, J. P., Koketsu, K. & Shinnick-Gallagher, P.: Slow excitatory postsynaptic currents in bullfrog sympathetic neurons. *J. Physiol.* **351**: 583-593, 1984
2. Akasu, T. & Koketsu, K.: The effect of adrenaline on the  $K^+$ -activated hyperpolarization of the sympathetic ganglion cell membrane in bullfrogs. *Jpn. J. Physiol.* **26**: 289-301, 1976
3. Akasu, T. & Koketsu, K.: Modulation of voltage-dependent currents by muscarinic receptor in bullfrog sympathetic ganglion cells. *Neurosci. Lett.* **29**: 41-45, 1982
4. Akasu, T. & Koketsu, K.: Electrogenesis of the slow inhibitory postsynaptic potential in bullfrog sympathetic ganglia. *Jpn. J. Physiol.* **33**: 279-300, 1983
5. Akasu, T. & Koketsu, K.: 5-hydroxytryptamine decreases the sensitivity of nicotinic acetylcholine receptor in bullfrog sympathetic ganglion cells. *J. Physiol.* **380**: 93-109, 1986
6. Blackman, J. G., Ginsborg, B. L. & Ray, C.: On the quantal release of the transmitter at a sympathetic synapse. *J. Physiol.* **167**: 402-415, 1963
7. Brading, A. F., Bülbring E. & Tomita, T.: The effect of sodium and calcium on the action potential of the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *J. Physiol.* **200**: 637-654, 1969
8. Brown D. A. & Adams, P. R.: Muscarinic suppression of a novel voltage-sensitive  $K^+$  current in a vertebrate neurone. *Nature*, **283**: 673-676, 1980
9. Eccles, J. C.: The nature of synaptic transmission in a sympathetic ganglion. *J. Physiol.* **103**: 27-54, 1944
10. Eccles, J. C., Fatt, P. & Koketsu, K.: Cholinergic and inhibitory synapses in a pathway from motor-axon collaterals to motoneurons. *J. Physiol.* **216**: 524-562, 1954
11. Eccles, R. M.: Responses of isolated curarized sympathetic ganglion. *J. Physiol.* **117**: 196-217, 1952
12. Eccles, R. M. & Libet, B.: Origin of blockade of the synaptic responses of curarized sympathetic ganglia. *J. Physiol.* **157**: 484-503, 1961
13. Fatt, P. & Ginsborg, B. L.: The ionic requirements for the production of action potentials in crustacean muscle fibres. *J. Physiol.* **142**: 516-543, 1958
14. Fatt, P. & Katz, B.: The electrical properties of crustacean muscle fibres. *J. Physiol.* **120**: 171-204, 1953
15. Frankenhaeuser, B. & Hodgkin, A. L.: The action of calcium on the electrical properties of squid axons. *J. Physiol.* **137**: 218-244, 1957
16. Goh, J.W. & Pennefather, P. S.: Pharmacological and physiological properties of the after-hyperpolarization current of bullfrog ganglion neurones. *J. Physiol.* **394**: 315-330, 1987
17. Goldman, D. E.: Potential, impedance, and rectification in membranes. *J. Gen. Physiol.* **27**: 37-60, 1943
18. Hagiwara, S. & Naka, K.: The initiation of spike potential in barnacle muscle fibers under low intracellular  $Ca^{2+}$ . *J. Gen. Physiol.* **48**: 141-162, 1964
19. Hagiwara, S. & Takahashi, K.: Surface density of calcium ions and calcium spikes in the barnacle muscle fiber membrane. *J. Gen. Physiol.* **50**: 583-601, 1967
20. Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F.: Current carried by sodium and potassium ions the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* **116**: 449-472, 1952
21. Hodgkin, A. L. & Katz, B.: The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.* **108**: 37-77, 1949
22. Horn, J. P. & Dodd, J.: Monosynaptic muscarinic activation of  $K^+$  conductance underlies the slow inhibitory postsynaptic potential in sympathetic ganglia. *Nature*, **292**: 625-627, 1981
23. Jan, Y. N., Jan, L. Y. & Kuffler, S. W.: A peptide as a possible transmitter in sympathetic ganglia of the frog. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**: 1501-1505, 1979
24. Karczmar, A. G., Koketsu, K. & Nishi, S.: (1986). Autonomic and enteric ganglia. Plenum press, New York.
25. Katayama, Y. & Nishi, S.: Voltage-clamp analysis of peptidergic slow depolarizations in bullfrog sympathetic ganglion cells. *J. Physiol.* **333**: 305-313, 1982
26. Katayama, Y. & North R. A.: Does substance P mediate slow synaptic excitation within the myenteric plexus? *Nature*, **274**: 387-388, 1978
27. Kimizuka, H. & Koketsu, K.: Changes in the membrane permeability of frog's sartorius muscle fibers in Ca-free EDTA solution. *J. Gen. Physiol.* **47**: 379-392, 1963
28. Kimizuka, H. & Koketsu, K.: Ion transport through

- cell membrane. *J. Theoret. Biol.* **6** : 290-305, 1964
29. Kobayashi, H. & Libet, B. : Generation of slow postsynaptic potentials without increase in ionic conductance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **60** : 1304-1311, 1968
  30. Kobayashi, H. & Libet, B. : Actions of noradrenaline and acetylcholine on sympathetic ganglion cells. *J. Physiol.* **353**-372, 1970
  31. Koketsu, K. : The role of calcium in membrane excitation. In *Proc. XXIIrd International Congress of Physiological Sciences, Tokyo, Excerpta Medica International Congress Series*. pp521-541, 1965.
  32. Koketsu, K. : The mode of actions of transmitter to neurone membrane (*in Japanese*). *Seitainokagaku*, **25** : 271, 1974
  33. Koketsu, K. : Modulation of receptor sensitivity and action potentials by transmitters in vertebrate neurones. *Jpn. J. Physiol.* **34** : 945-960, 1984
  34. Koketsu, K. & Akasu, T. : Modulation of the slow inward current by adrenaline in bullfrog sympathetic ganglion cells. *Jpn. J. Physiol.* **32** : 137-140, 1982
  35. Koketsu, K. & Akasu, T. : (1985). Postsynaptic modulation. In *Autonomic and enteric ganglia*. Edited by A.G. Karczmar, K. Koketsu & S. Nishi. pp273-295. Plenum Pub. Co.
  36. Koketsu, K., Cerf, J. A. & Nishi, S. : Effect of quaternary ammonium ions on electrical activity of spinal ganglion cells of frogs. *J. Neurophysiol.* **22** : 177-194, 1959a
  37. Koketsu, K., Cerf, J. A. & Nishi, S. : Further observations on electrical activity of frog spinal ganglion cells in sodium-free solutions. *J. Neurophysiol.* **22** : 693-703, 1959b
  38. Koketsu, K., Hasuo, H. & Akasu, T. : (1991). Regulation of acetylcholine release from preganglionic and motor nerve terminals by biogenic substances in vertebrates. In *Presynaptic regulation of neurotransmitter release : A handbook*. Edited by J. Feigenbaum & M. Hanani. pp975-993. Freund Pub. House, Ltd. Tel Aviv, Israel.
  39. Koketsu, K. & Koyama, I. : Membrane responses of frog's skeletal spinal ganglion cells in calcium-free solutions. *J. Physiol.* **163** : 1-12, 1962
  40. Koketsu, K. & Minota S. : The direct action of adrenaline on the action potentials of bullfrog's (*Rana catesbeiana*) sympathetic ganglion cells. *Experientia*. **31** : 822-823, 1975
  41. Koketsu, K. & Nakamura, M. : The electrogenesis of adrenaline-hyperpolarization of sympathetic ganglion cells of bullfrogs. *Jpn. J. Physiol.* **26** : 63-77, 1976
  42. Koketsu, K. & Nishi, S. : Action potentials of single intrafusal muscle fibres of frogs. *J. Physiol.* **137** : 193-209, 1957a
  43. Koketsu, K. & Nishi, S. : An analysis of junction potentials of intrafusal muscle fibres in frogs. *J. Physiol.* **139** : 15-26, 1957b
  44. Koketsu, K. & Nishi, S. : Restoration of neuromuscular transmission in sodium-free hydrazone solution. *J. Physiol.* **147** : 239-252, 1959
  45. Koketsu, K. & Nishi, S. : Effect of hydrazine on the excitable membrane in sodium-free media. *J. Physiol.* **150** : 440-450, 1960
  46. Koketsu, K. & Nishi, S. : Characteristics of the slow inhibitory postsynaptic potential of bullfrog sympathetic ganglion cells. *Life Sci.* **6** : 1827-1836, 1967a
  47. Koketsu, K. & Nishi, S. : Origin of ganglionic inhibitory postsynaptic potential. *Life Sci.* **6** : 2049-2055, 1967b
  48. Koketsu, K. & Nishi, S. : Cholinergic receptors at sympathetic preganglionic terminals. *J. Physiol.* **196** : 293-310, 1968
  49. Koketsu, K. & Nishi, S. : Calcium and action potentials of bullfrog sympathetic ganglion cell. *J. Gen. Physiol.* **53** : 608-623, 1969
  50. Koketsu, K. & Noda, K. : Membrane responses of frog skeletal muscle fibers in calcium-free media. *J. Cell. Comp. Physiol.* **59** : 323-332, 1962
  51. Koketsu, K. & Shirasawa, Y. : 5-HT and the electrogenic sodium pump. *Experientia*, **30** : 1034-1035, 1974
  52. Kuba, K. & Koketsu, K. : Analysis of the slow excitatory postsynaptic potential in bullfrog sympathetic ganglion cells. *Jpn. J. Physiol.* **26** : 651-669, 1976
  53. Kuba, K. & Koketsu, K. : Direct control of action potentials by acetylcholine in bullfrog sympathetic ganglion cells. *Brain Res.* **89** : 166-169, 1975
  54. Kuba, K. & Koketsu, K. : The muscarinic effects of acetylcholine on the action potential of bullfrog sympathetic ganglion cells. *Jpn. J. Physiol.* **26** : 703-716, 1976
  55. Kuba, K. & Koketsu, K. : Synaptic events in sympathetic ganglia. *Prog. Neurobiol.* **11** : 77-170, 1978
  56. Kuba, K., Kato, E., Kumamoto, E., Koketsu, K. & Hirai, K. : Sustained potentiation of transmitter release by adrenaline and dibutyryl cyclic AMP in sympathetic ganglia. *Nature*, **291** : 654-656, 1981
  57. Laporte, Y. & Lorente De Nó, R. : Potential changes evoked in a curarized sympathetic ganglion by Presynaptic volleys of impulses. *J. Cell. Comp. Physiol.* **35** : Suppl. 2, 61-106, 1950
  58. Libet, B. : Long latent periods and further analysis of slow synaptic responses in sympathetic ganglia. *J. Neurophysiol.* **30** : 494-514, 1967
  59. Libet, B. & Kobayashi, H. : Generation of adrenergic and cholinergic potentials in sympathetic ganglion cells. *Science*, **164** : 1530-1532, 1969
  60. Lorente De Nó, R. : On the effect of certain quaternary ammonium ions upon frog nerve. *J. Cell. Comp.*

- Physiol. **33** : 1-231, 1949
61. Minota S. & Koketsu, K. : Effects of adrenaline on the action potential of sympathetic ganglion cells in bullfrogs. *Jpn. J. Physiol.* **27** : 353-366, 1977
  62. Nishi, S. & Koketsu, K. : Electrical properties and activities of single sympathetic ganglion neurons in frogs. *J. Cell. Comp. Physiol.* **55** : 15-30, 1960
  63. Nishi, S. & Koketsu, K. : Late afterdischarges of sympathetic postganglionic fibers. *Life Sci.*, **5** : 1991-1997, 1966
  64. Nishi, S. & Koketsu, K. : Early and late afterdischarges of amphibian sympathetic ganglion cells. *J. Neurophysiol.* **31** : 109-121, 1968a
  65. Nishi, S. & Koketsu, K. : Analysis of slow inhibitory postsynaptic potential of bullfrog sympathetic ganglion. *J. Neurophysiol.* **31** : 717-728, 1968b
  66. Nishi, S., Soeda, H. & Koketsu, K. : Release of acetylcholine from sympathetic preganglionic nerve terminals. *J. Neurophysiol.* **30** : 114-134, 1967
  67. Nishi, S., Soeda, H. & Koketsu, K. : Studies on sympathetic B and C neurons and patterns of preganglionic innervation. *J. Cell. Comp. Physiol.* **66** : 19-32, 1965
  68. Nishi, S., Soeda, H. & Koketsu, K. : Unusual nature of ganglionic slow EPSP studied by a voltage-clamp. *Life Sci.* **8** : 33-42, 1969
  69. Reuter, H. : The dependence of slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium concentration. *J. Physiol.* **192** : 479-492, 1967
  70. Suetake, K., Kojima, H. Inanaga, K. & Koketsu, K. : Catecholamine is released from non-synaptic cell-soma membrane : histochemical evidence in bullfrog sympathetic ganglion cells. *Brain Res.* **205** : 436-440, 1981
  71. Tasaki, I. : Demonstration of two stable states of the nerve membrane in potassium rich media. *J. Physiol.* **148** : 306-331, 1959
  72. Tasaki, I. : (1968). *Nerve excitation*. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, USA.
  73. Tosaka, T., Chichibu, S. & Libet, B. : Intracellular analysis of slow inhibitory and excitatory postsynaptic potentials in sympathetic ganglia of the frog. *J. Neurophysiol.* **31** : 396-409, 1968
  74. Weight, F. F. & Votava, J. : Slow synaptic excitation in sympathetic ganglion cells : Evidence for synaptic inactivation of potassium conductance. *Science*, **170** : 755-758, 1970