

血液・脳脊髄液関門の Ca 透過性と糖質コルチコイド

千葉大学医学部第二生理学教室 (主任 福田篤郎教授)

宇井潤一郎

JUNICHIRO UI

(昭和 42 年 5 月 15 日受付)

I 序 言

血清電解質に対する血液・脳脊髄液関門の存在は古くより指摘され、血清濃度の変動にかかわらず、脳脊髄液電解質濃度の恒常性が維持されることが知られている。しかしながらその機構および調節因子に関しては、まったく未解決の現状といえよう (Ames III ら, 1964)。

著者はたまたま副腎摘除ウサギにアチドーシスを招来する目的で CaCl_2 液の緩徐静注を試みるに、動物は血清濃度の上昇に対してきわめて過敏となり、容易にショック死をきたすことを知った。それが機序を追求するに、はからずも血液・脳脊髄液関門の Ca 透過性は糖質グルココルチコイド欠損時には著しく高まり、ショックは静注された Ca の髄液移行によると考えられるに至った。よってここにその経過を述べ、ウサギにおける血液・脳脊髄液関門の Ca 透過性が糖質コルチコイドの支配をうけるという新事実を報告する。なお結果の一部は指導者福田とともに Nature 誌 (1967, 5 月) に発表した。

II 実験方法

実験には体重 2.8 kg 前後の白色ウサギを使用し、オカラ (1 日 300 g・NaCl 0.5 g) をもって飼育した。副腎摘除後、何らの処置も施さずに長期にわたり健康を維持できることは福田ら⁴⁾の指摘したごとくであった。種々の濃度の CaCl_2 液 20 ml を、持続注入器により耳殻静脈より 30 分間で注入した。実験の多くは無麻酔のまま首かせ箱に入れて行ない、血圧は頸動脈で水銀血圧計により記録した。呼吸曲線はマスク法により呼吸路にタンブールをつけて描記した。脳脊髄液の採集あるいは大脳槽内注射に際しては、ウレタン麻酔の下で固定台に縛着し、頭部を挙上牽引し、操作を容易にした。ウレタン量 (20% 液, 筋注) は正常ウサギでは 3.0 ml/kg, 副腎

摘除ウサギでは 1.5 ml/kg とした。Ca 定量は初期には柳沢法¹⁷⁾によったが後にスペクトル分析法¹⁴⁾に改めた。血清の透析性 Ca 分画は Toribara ら¹⁴⁾にしたがって分離した。

III 結 果

A. 副腎摘除ウサギに見る Ca ショックの様相

3.7% CaCl_2 液 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の 5.0% 液に当たる) を規定の条件 (20 ml-30 分間) で注入するに、正常ウサギでは耳殻血管の拡張、縮腫、流涎等の症状がみられるも、血圧、心電図にはそれほどの変化はなく、動物はよくその注入に耐えうる (図 1 A)。しかしながら副腎摘除ウサギでは同一条件での CaCl_2 液の注入に際し、図 1 B に示すような経過で顕著な血圧下降が招来される。この際心電図には変化をみないが、症状に関しては正常ウサギにみられたもののほか、血圧下降にやや先行してチアノーゼが出現し筋無力状態となることが特徴である。しかしチアノーゼが次第に顕著になるにかかわらず、呼吸困難を欠くことは図 1 B の呼吸曲線にみるごとくである。ここに図示した例では、ショックの急速な進行を防ぐために CaCl_2 液注入を 15 ml で中止した。なお NaHCO_3 液注入により血清 Ca イオン濃度の減少、アチドーシスの軽減を計るも、それほどの効果はなくチアノーゼも十分改善されず、動物はやがて虚脱状態となり数時間後には死亡した。

いま上記の CaCl_2 液注入条件における血清 Ca 濃度の上昇経過を正常ウサギで調べるに、図 2 に示すごとくである。その関係は副腎摘除ウサギの場合にもほぼ同様であり、総 Ca 濃度に対する透析性 Ca の比率は約 60% (56~65%) であった。3.7% CaCl_2 液注入により総 Ca 濃度は $12.4 \pm 1.0 \text{ mg\%}$ (6 例, $\pm \text{S. E.}$) から $38.5 \pm 2.3 \text{ mg\%}$ に上昇した。したがって副腎摘除ウサギは Ca 濃度の 3 倍の上昇にも耐えず、特有なショックが招来され

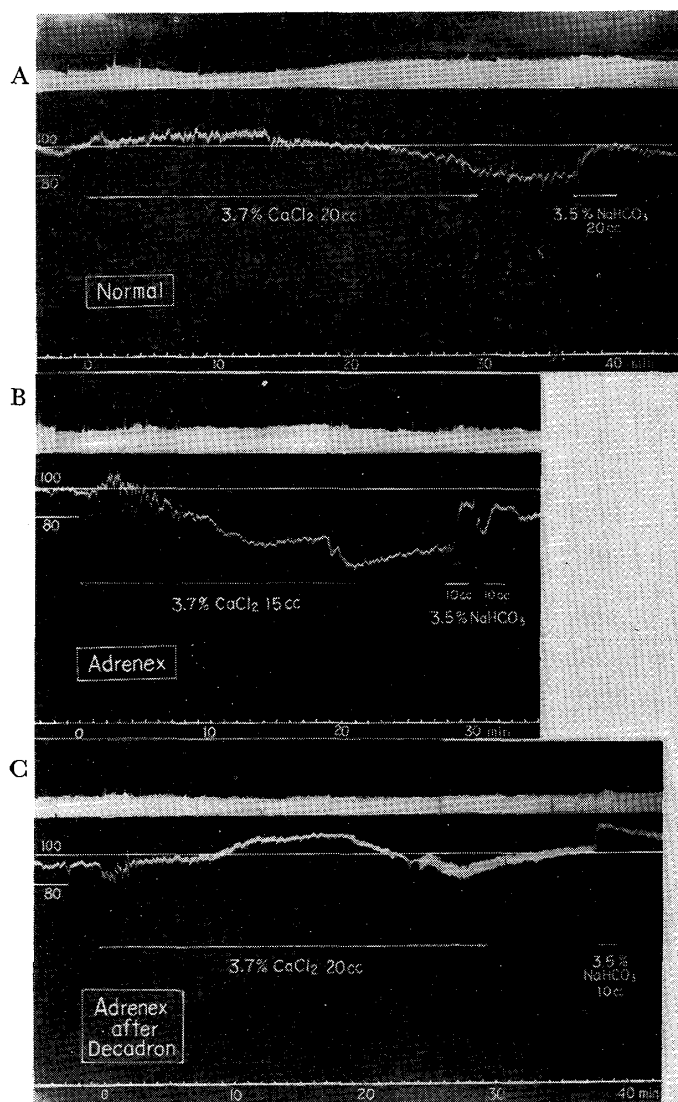


図1. CaCl_2 液、静注時の呼吸および血圧曲線
A, B, C, 各図とも上段は呼吸, 中段は血圧, 下段は時標 (min), ——線の間は薬物が持続注入されていることを示す。

ることとなる。ショック傾向は 2.3% CaCl_2 液 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の 3.0% に当たる) の 20 ml, 30 分間での注入時にもみられ, その際の血清 Ca 濃度は $21.1 \pm 1.5 \text{ mg}\%$ (6 例) と正常値の 2 倍にも達しない。この事がらは図 1 B にみる血圧下降が比較的早期に, すなわち血清 Ca 濃度の初期上昇期にすでに開始されることと一致する。心電図上, 顕著な所見 (徐脈, 期外収縮, 脚ブロック, 心房粗動, および心搏停止) は血清 Ca 濃度が $50 \text{ mg}\%$ を越えてはるかに上昇せねばみられず, ここに用いた注入条件では, 正常ウサギで CaCl_2 液濃度を 7.5% ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の 10% 液) 以上に高めねばみられなかった。

副腎摘除ウサギの Ca ショック死の剖検所見としては, 肺動脈, 右心室および右心房の顕著な拡張が目だ

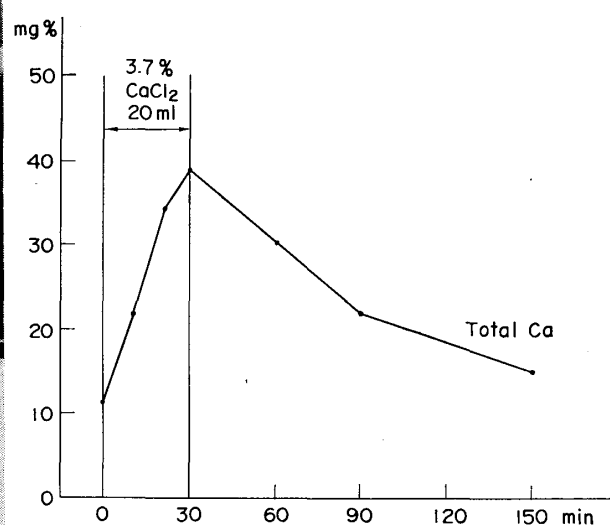


図2. CaCl_2 液, 20 ml-30 分間の持続静注時における血清 Ca 濃度

ち, 肉眼的には他にそれほどの変化はみられなかった。その様相は本動物の過敏性ショックにきわめて類似し, 肺動脈の強度の収縮が推測される。血圧下降が同時に顕著なチアノーゼを伴うこともそれを裏書きするであろう。

B. 副腎摘除ウサギの Ca ショックと糖質コルチコイド

正常ウサギでは上記の 3.7% CaCl_2 液注入条件では血糖値は約 $30 \text{ mg}\%$ の増加を示すが, 副腎摘除ウサギではそれはみられなかった。正常ウサギの血糖値の上昇はアドレナリンの分泌によるものと考えられるが, 副腎摘除ウサギに塩酸エピレナミン (三共) 0.1~0.5 ml の皮下注射をあらかじめ行なうも Ca ショックは防止されなかった。一方副腎摘除ウサギに糖質コルチコイドの前処置を行なうと図 1 C に示すようにきわめて効果的であり, よく 3.7% CaCl_2 液の 20 ml 静注に耐え, 上記のチアノーゼも出現せず生存した。その際, 縮腫および流涎は抑制されることなくみられた。本例では Dexamethason (Decadron) 4 mg を 3 時間前に静注した。Decadron の 1 時間前の投与では, その効果は十分でなく, 急性ショックは緩和されるも, 致死経過をとる。ひとたびショックが招来されれば, 上記の 3 倍量の Decadron を静注するも無効であった。糖質コルチコイド前処置に際しては, 投与の時間的關係が重要であり, Cortisone (3 mg/kg) 筋注を実験前 3 日間くり返せば, よくショックは防止されうる。なお DCA 投与は無効であった。かくて副腎摘除ウサギの CaCl_2 液静注に対する抵抗性減弱は髄質分泌の欠損, あるいは電解質コル

チコイド欠損によるものでもなく、糖質コルチコイド欠損が決定的な役割を演ずることを知った。

C. 糖質コルチコイドと血液・脳脊髄液関門の Ca 透過性

糖質コルチコイド欠損時にみられる血清 Ca 濃度上昇に伴うショックは、高 Ca 血の心臓血管系に対する直接作用とは考え難い点が多い。たとえば上記の CaCl_2 液注入実験において、注入停止後、血清 Ca 濃度は旧に復するもひとたび招来されたショックは回復しない。すなわちショックは Ca イオンの組織、器官への半不可逆的侵入によると考えられる。ここにショック時には縮腫その他の中枢神経症状が顕著なことから、Ca イオンが血液・脳関門を通過し、直接中枢神経系に働らく可能性を想定するに至った。よってそれを検討すべく、3.7% CaCl_2 液 20 cc・30 分間注入の前後の脳脊髄液の Ca 濃度を調べた。結果は図 3 に示すごとく、副腎摘除ウサギでは正常ウサギにくらべ顕著な上昇がみられ、かつ、それは糖質コルチコイド前処置 (Decadron 4 mg, 3 時間前静注) により完全に阻止されることを知った。ここにはからずも脳脊髄液の Ca 濃度の恒常性維持機構は、糖質コルチコイド欠損時には障害され、血清 Ca イオン濃度の上昇に際して容易にその侵入を許すという新事実を見出すに至った。上昇した髄液 Ca 濃度の回復はゆるやかであり、上記の半可逆的効果も期待される。

なお量的にみると正常時の脳脊髄液 Ca 濃度は既知のごとく血清透析性 Ca 濃度にほぼ等しいが、副腎摘除ウサギの CaCl_2 液静注時にみられる脳脊髄液 Ca 濃度の

上昇比率は、血清透析性 Ca 濃度のそれに比して遙かに低い (約 0.4)。すなわち糖質コルチコイド欠損時といえども、血液・脳脊髄液関門の Ca 調節機序は破壊されるということはない。

D. 大脳槽内 CaCl_2 液注入の影響について

上記のごとく糖質コルチコイド欠損時の血液・脳脊髄液関門の Ca 透過性亢進により、脳脊髄液内に侵入した Ca イオンが、はたして副腎摘除ウサギにみる CaCl_2 液静注時の特有なショックと直接の因果関係をもつか否かが問題となる。脳脊髄液中への CaCl_2 液注入の影響は、ネコ²⁾¹⁰⁾ およびイヌ⁹⁾¹⁶⁾ では広範に研究されてきたが、

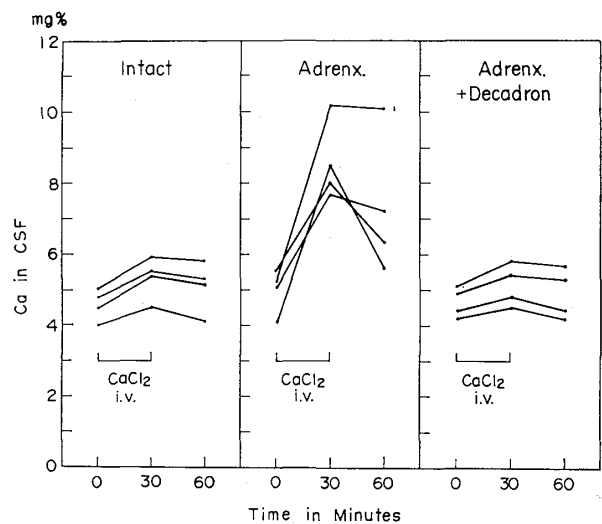


図 3. 3.7% CaCl_2 液, 20 ml-30 分間の持続静注前後の脳脊髄液 Ca 濃度

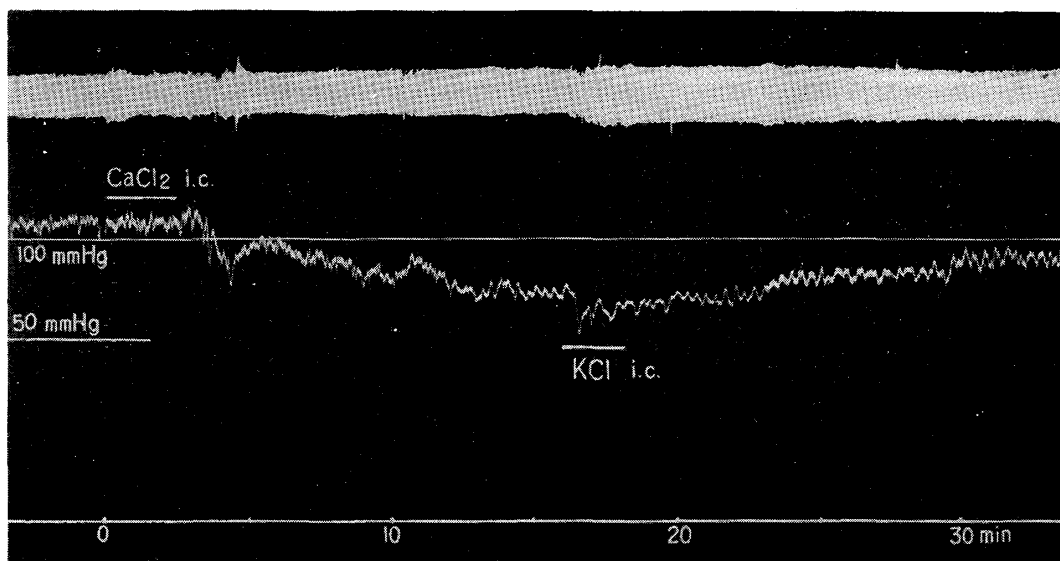


図 4. CaCl_2 液 (1.0%, 0.2 ml) および KCl 液 (1.0%, 0.2 ml) の大脳槽内、注入時における呼吸および血圧曲線 (正常ウサギ)。上段より呼吸、血圧、時標 (min) を示し、——線は薬物の注入期間を示す。

ウサギについての報告をみない。そこで CaCl_2 液 (1.0%) の大脳槽内注入の影響を調べることとした。少量の CaCl_2 液 (0.2 ml 以下) を同量の髄液除去後に脳槽内に注入するに、図4に示すように正常ウサギにおいても直ちに縮腫、血管拡張および血圧の下降が始まり、チアノーゼも時間の経過とともに増強した。しかし呼吸曲線には末期に至るまでは変化はみられなかった。これらの症状は流涎をみないこと以外は、副腎摘除ウサギでの CaCl_2 液静注に際して観察されたものとまったく同様であった。なお同図に示したように、この中枢性 Ca ショックは KCl 液 (1.0%) の脳槽内注入によって阻止され、ここに Ca イオンの中枢作用に対する K イオンの拮抗効果が明らかに観察された。以上の観察より副腎摘除ウサギにみられる Ca ショックの発来は、 Ca イオンの脳脊髄液内移行にもとづいて説明されうることを知った。

次に脳脊髄液の Ca イオン濃度の上昇に対する中枢神経系の感受性が糖質コルチコイドにより影響されるか否かを検討した。1.0% CaCl_2 液の脳槽内注入後のショック死亡率によってそれを判定すれば、表Iに示すような成績がえられる。死亡率は副腎摘除により高まり、糖質コルチコイドの前処置により低下する。すなわち糖質コルチコイドは脳脊髄液 Ca 濃度上昇による中枢性ショック招来に対し抑制効果を示すことがわかる。したがって糖質コルチコイド欠損時には CaCl_2 液静注に際し、単に Ca イオンの脳脊髄液移行が促進されるのみならず、中枢の Ca 感受性の高まりも加わり、 CaCl_2 液静注に対する抵抗性の著しい減少が招来されるものと解される。

なお糖質コルチコイド前処置例においては、 CaCl_2 液脳槽内注入に際し縮腫を除いては何らの症状を示さない

ことを知った。

表1: 大脳槽内 CaCl_2 注入量と死亡率

	CaCl_2 量	実験例	死亡率
正 常 ウ サ ギ	2.5 mg	6	3
副腎摘除ウサギ	2.5 mg	4	4
	1.5 mg	4	0
正 常 ウ サ ギ + デ カ ド ロ ン	2.5 mg	6	0
正 常 ウ サ ギ 迷 走 神 經 切 断	2.5 mg	4	0

E. Ca ショックの中枢機序

脳槽内 CaCl_2 液注入によって招来される Ca ショック死の剖検所見は、副腎摘除ウサギへの CaCl_2 液静注によるショック死のそれとまったく同様であった。両者にみられる肺動脈攣縮が、迷走神経を介して行なわれるか否かを検討すべく、 CaCl_2 液の脳槽内注入に先立って両側頸部迷走神経切断を行なうに、チアノーゼおよび血圧下降は完全に阻止され、表1に示すようによく注入に耐えて生存することを知った。副腎摘除ウサギでの CaCl_2 液静注による Ca ショックについても頸部迷走神経切断効果をみるに (5例)、ショックの急激な開始は緩和され、チアノーゼも出現せず、筋無力も著しく軽減されることを知った。しかしながら急性死をまぬがれた動物も翌朝までにはすべて死亡した。それに関しては頸部迷走神経切除自体の遅発性の障害も考慮されねばならないであろう。

F. 血液・脳脊髄液関門の K 透過性

副腎摘除ウサギの CaCl_2 液静注によるショックは

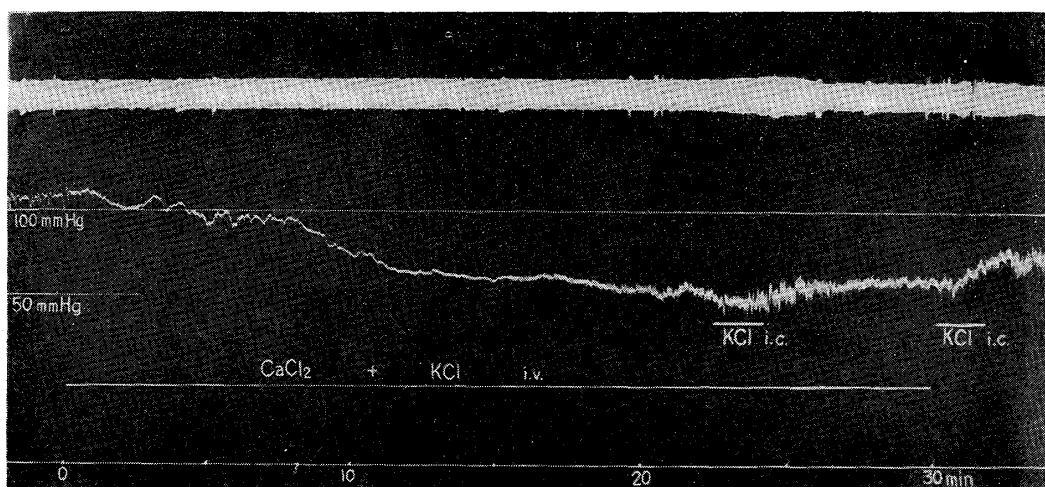


図5. 3.7% CaCl_2 -2.0% KCl 混合液、静注時の呼吸および血圧曲線。 KCl i. c.: 1.0% KCl , 0.1 ml 大脳槽注入 (正常ウサギ)。上段より呼吸、血圧、時標 (min) を示し、——線の間は薬物が注入されていることを示す。

KCl 液の静注によっては阻止されない。図5はCaCl₂ 液とKCl 液を同時に静注してもCaショックの発生は阻止されぬことを示したものである。このことはショックが末梢性にCaイオンの直接の心血管作用によるものではないことを裏書きするであろう。なお同図に示したように、少量のKCl 液を脳槽内に注入すれば、ショックは迅速に阻止されうることを知った。既述のように大脳槽内CaCl₂ 液注入によるショックは同じく脳槽内KCl 液注入により拮抗されることを思えば、本観察は次のようにして説明されうるであろう。糖質コルチコイド欠損時にはCaイオンの脳脊髄液移行は容易に起こるが、Kイオンのそれは行なわれず、したがってKCl 液の静注はCaCl₂ 液静注によるショックを阻止しえない。後者の可能性、すなわちKイオン透過性を検討するために、2.0% KCl 液(20 ml-30分)の静脈内注射を副腎摘除ウサギに試みた。血清K値は約30 mg%まで上昇するにもかかわらず脳脊髄液内のK濃度は僅かに10.4 mg%より11.5 mg%に(4例平均)上昇したにすぎない。すなわち脳脊髄液内におけるK濃度の恒常性維持は糖質コルチコイド欠損時においても行なわれうることを知った。

IV 考 察

CaCl₂ 液の持続静注による致死経過はもっぱら、心機能障害発生によるものとされ、末期に至るまで末梢循環障害、血圧下降をみぬことはHoffらの強調したところである⁶⁾⁷⁾。ここに注目すべきは、Hoffら⁶⁾もウサギでの実験で、迷走神経性徐脈のほか、腸管蠕動の亢進、縮腫など副交感神経刺激症状の出現を記載していることである。本動物がイヌと異なり、高Ca血性の心機能障害に際して心室粗動・細動をきたし難く、心搏停止により致死的経過をとることも、氏らはウサギは副交感神経緊張型、イヌは交感神経緊張型に属するためと推測した。しかしウサギにみる上記症状の出現機序に関しては、何らの検討もなされなかった。著者はたまた副腎摘除ウサギで実験するに、中毒症状の大部分が糖質コルチコイド欠損に基づいて中枢性に招来されることを証明しえた。脳脊髄液中のCa/K比が自律神経状態に著しく影響することは、すでにStern¹²⁾の強調したところであり、正常ウサギといえども心機能障害をきたしうるほど、血清Ca濃度が高まれば脳脊髄液電解質濃度調節可能の限界を越え、髄液Ca濃度の多少の上昇に伴う中枢症状の出現は当然予測されう。もとよりそれは副腎摘除動物にみられるほど顕著でなく、本研究において指摘された迷

走神経を介する肺動脈の顕著な収縮、それに基づく循環障害、血圧下降はみられない。このようなショック機序はウサギに特有と考えられ、ネコ²⁾、イヌ⁹⁾について行なわれた大脳槽内あるいは脳室灌流液へのCaCl₂ 液添加実験では観察されえない。ただLeusen⁹⁾はイヌにおいて髄液Ca濃度上昇に際して血圧下降ならびに血管運動神経反射の抑制をみるというも、氏の実験は血管運動神経反射を調べるため、両側迷走神経切断ならびに頸動脈洞分離という特種条件下であることに注意しなければならない。なおFeldbergおよびSherwood²⁾はネコではCaイオンの中枢作用に基づき、呼吸の抑制および睡眠様状態のみられることを強調したが、ウサギではそのようなことは観察されず、また表面脳波に関する限り、脳波にも何ら変化をみなかった。

迷走神経中に肺動脈収縮神経繊維が存在するか否かは論議のあるところであり³⁾、おそらく動物種によっても相異なるであろう。古くvon Euler¹³⁾はウサギの肺灌流実験において、肺動脈収縮がアセチルコリンによっても、また頸部迷走神経刺激によってもみられることを報告し、後者の場合気管枝収縮と無関係にも起こりうるとした。またThornton¹³⁾もウサギの迷走神経刺激時に肺灌流液中にアセチルコリン様物質の遊離することをみている。著者が大脳槽内CaCl₂ 液注入により迷走神経を介する肺血行障害を呼吸曲線の変化なしに観察しえたことは、これの実験とともに、ウサギにおいては迷走神経性肺動脈収縮神経(コリン作動性)の存在を裏書きするものと思われる。ウサギのアナフィラキシーが肺動脈に起こり易いという特異性も、このような神経支配をもつ特種事情に基づくものと考えられる。

副腎摘除ウサギのCaCl₂ 液静注時に出現する症状のうち、流涎のみは大脳槽内CaCl₂ 液投与で再現されなかった。その機序に関しては末梢性の可能性が大きい。また脳槽内CaCl₂ 液投与時の症状のうち縮腫のみは糖質コルチコイド前処置で抑制されえなかったことも、糖質コルチコイド中枢作用点に関して注意すべきことであろう。なお糖質コルチコイドは容易に髄液移行が可能なのはChristyおよびFishman¹⁴⁾によってイヌで報告されている。

主題とした血液・脳脊髄液(CSF)関門のCa透過性に関しては古くより論ぜられ、脳脊髄液Caイオン濃度は血清の透析性Caと平衡するとの論も行なわれたが、血清Ca濃度の上昇あるいは下降に応じて変動すること少なく、その恒常性維持機構の存在が指摘されるに至った(MorgulisおよびPerley¹¹⁾)。氏らはその機構に副甲状腺ホルモンは何ら関与せぬことを示した。最近

Graziani ら⁵⁾は Ca^{45} を用い CSF から血清への移行はゆるやかな拡散によるものであり、能動輸送の可能性のないことから、CSF 中の Ca 濃度恒常性維持は Ca の血清から CSF への移行の調節にあるとした。脈絡叢の分泌的役割が問題となるであろうが、調節機序は CSF 分泌促進には影響されず、その機構は明らかにされていない。ここにウサギで認められた糖質コルチコイド欠損時の CSF の Ca 濃度調節機序障害はおそらく脈絡叢の機能障害に基づくものと推測される。なお Graziani ら⁵⁾は Ca^{45} を含む液で脳室灌流を行ない、それが CSF 通路に接する脳組織に 2~3 mm を越えて侵入せず、中脳、橋、延髄に最大活性がみられるという。副腎摘除ウサギにみる高 Ca 血ショック時の中枢症状の理解に重要なことと思われる。

なお K に関しては Leiderman および Katzman⁸⁾ は白ネズミで副腎摘除後、その血清より脳への流出はほとんど変化しないことをみている。K の血清 CSF 関門透過性、その CSF 中濃度の恒常性維持機構はおそらく Ca のそれと異なり、糖質コルチコイドの支配をうけぬものと考えられ、ここに Ca の特異性が指摘されうる。

最後にウサギの Ca 血清濃度に関しては顕著な季節変動のあることが柳沢¹⁸⁾によって指摘され、著者もまた氏の定量法に従えば、同様夏期に透析性 Ca 濃度の低下を認め、かつまた CSF の Ca 濃度の低下傾向あることを知った。これらに関してはいずれ本実験に行なった遠心濾過法¹⁴⁾で再検査したいと考えている。また大脳槽内 CaCl_2 液注入の影響にも季節変動がみられるようで、1~2月の極寒期には感受性が低下することに気づいた。本研究における同実験(表1)は10—12月、4—6月に行なったものである。

V 総 括

副腎摘除ウサギは CaCl_2 液静注による高 Ca 血に対してきわめて過敏性となり、何ら心臓障害を呈しえない比較的軽度の高 Ca 血によっても、チアノーゼを伴った致死的血圧下降が招来される。剖検所見では肺動脈、右心の著明な拡大がみられ、本動物のアナフィラキシー・ショックにみるような、肺動脈末梢の収縮が推測される。このようなショックは副腎摘除ウサギをあらかじめ糖質コルチコイドで前処置すれば完全に防止されうる。ここに糖質コルチコイドの奏効機序を追求するに、はからずも血液・脳脊髄液関門の Ca 透過性は糖質コルチコイド欠損時に著しく高まり、 CaCl_2 液静注に際し髄液

Ca 濃度の顕著な上昇がみられることを知った。また大脳槽内への少量の CaCl_2 液注入は、他種動物(ネコ・イヌ)と異なり、上記のような特有なショックを招来し、かつそれは両側頸部迷走神経切断によって阻止されることをみた。糖質コルチコイドの脳脊髄液電解質濃度の恒常性維持に関する役割は Ca に特有のものであり、K については観察されえなかった。

稿を終るに当たり、終始懇篤なご指導とご校閲を賜った恩師福田篤郎教授に深く感謝します。あわせて教室員諸兄姉のご援助に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Christy, N. P. and Fishman, R. A.: Studies of the blood-cerebrospinal fluid barrier to cortisol in the dog. *J. Clin. Invest.* 40, 1997, 1961.
- 2) Feldberg, W. and Sherwood, S. L.: Effect of calcium and potassium injected into the the cerebral ventricles of the cat. *J. Physiol.* 139, 408, 1957.
- 3) Fishman, A. P.: Dynamics of the pulmonary circulation. *Handbook of Physiology: Circulation II*, 1667, 1963.
- 4) Fukuda, T. and Koyama, Y.: Species difference in the derangement of mineral metabolism after adrenalectomy. *Jap. J. Physiol.* 13, 187, 1963.
- 5) Graziani, L., Escriva, A. and Katzman, R.: Exchange of calcium between blood, brain, and cerebrospinal fluid. *Am. J. Physiol.* 208, 1058, 1965.
- 6) Hoff, H. E. and Nahum, L. H.: An analysis of the cardiac irregularities produced by calcium, and their prevention by sodium amytal. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* 60, 425, 1937.
- 7) Hoff, H. E., Smith, P. K. and Winkler, A. W.: Electrocardiographic changes and concentration of calcium in serum following intravenous injection of calcium chloride. *Am. J. Physiol.* 125, 162, 1939.
- 8) Leiderman, P. H. and Katzman, R.: Effect of adrenalectomy, desoxycorticosterone and cortisone on brain potassium exchange. *Am. J. Physiol.* 175, 271, 1953.
- 9) Leusen, I.: The influence of calcium, potassium ions in cerebrospinal fluid on vasomotor

- system. *J. Physiol.* 110, 319, 1950.
- 10) Marinesco, G., Sager, O. and Kreindler, A.: Experimentelle Untersuchungen zum Problem des Schlafmechanismus. *Z. f. ges. Neurologie u. Psychiatrie.* 119, 277, 1929.
- 11) Morgulis, S. and Perly, A. M.: Studies on cerebrospinal fluid and serum calcium with special reference to the parathyroid hormone. *J. Biol. Chem.* 88, 169, 1930.
- 12) Stern, L.: Direct chemical action upon nerve centres in biology and medicine. *Nature* 156, 7, 1945.
- 13) Thornton, J. W.: The liberation of acetylcholine at vagus nerve endings in isolated perfused lungs. *J. Physiol.* 82, 149, 1934.
- 14) Toribara, T. Y., Terepka, A. R. and Dewey, P. A.: The ultrafiltrable calcium of human serum. *J. Clin. Invest.* 36, 738, 1957.
- 15) v. Euler, U. S.: A vaso-constrictor action of acetylcholine on the rabbit's pulmonary circulation. *J. Physiol.* 74, 271, 1932.
- 16) Walker, S. M., Smolik, E. A. and Gilson, A. S.: The effect of intracisternal injection of potassium phosphate on the rate and rhythm of the heart and on the blood pressure and on the respiration of the dog. *Am. J. Physiol.* 145, 223, 1945.
- 17) Yanagisawa, F.: New colorimetric determination of calcium and magnesium. *J. Biochem.* 42, 3, 1955.
- 18) 柳沢文正: カルシウム 及び マグネシウム新定量法と代謝, 文光堂, 東京, 1955.
-