

ラット満腹中枢に対する免疫学的検討

金沢大学大学院医学研究科生理学第二講座 (主任：大村裕教授)

杉 森 睦 之

(昭和48年3月12日受付)

1940年に Hetherington と Ranson¹⁾ が、ラットの視床下部腹内側核 (VMH) の破壊で過食と肥満の起こることを見出した。それ以来多くの研究者の破壊や刺激実験^{2)~9)} から、哺乳動物ではVMHが満腹感を発生し、摂食を停止する満腹中枢であることがみとめられている。一方、この1.3mm外側よりの外側野 (LH) が、Anand と Brobeck⁵⁾ の破壊実験以来食欲を発生し摂食行動を誘起する摂食中枢であることも判明している。

1956年、Mayer と Marshall¹⁰⁾ はマウスの血中に投与された金—チオグルコースが肥満をおこすとともに、組織学的にVMHの破壊が生じていることを見つけた。そこで彼等はここに特殊なグルコース親和性のあるニューロンすなわちグルコース受容ニューロンの存在を仮定した。彼等の提出した糖定常説では、動物の満腹機序は摂食による血中グルコース濃度上昇をこれらグルコース受容ニューロンが感知することによって起こるというわけである。その後 Oomura¹¹⁾ や Anand¹²⁾ によって、ネコの頸動脈や静脈中にグルコースを注入することによってVMH内に自発放電活動の上昇するニューロンを見出した。その後 Oomura¹³⁾ によりラットで多連微小電極法を用いて精密に直接グルコースを単一ニューロンに投与することによって、VMH内に放電頻度の増加するニューロンが約1/3存在することが証明された。このニューロンの放電上昇は投与するグルコース量に比例することから特異的にグルコースと反応するグルコース受容膜をもっていると考えられる。

さて、Mihailovic¹⁴⁾ はネコの anti-caudate nucleus γ -globulin (γ -G) をネコの脳室内に注入すると、caudate 核 (Cd) でテンカン様脳波の発現することを見た。同様にサルの Hippocampus へサルの anti-hippocampal γ -G を、またCdへ anti-caudate nucleus γ -G を注入することでも同様

な現象をみたが、これらはすべて部位特異性の反応であった。このことから彼等は脳のある部位に特異的な抗体を作ることが可能であることを示唆している。¹⁵⁾

組織解剖学的にVMHは、他の視床下部と異なり明瞭な境界をもった核¹⁶⁾¹⁷⁾ で約20,000個のニューロンが存在する。さらに1/3を占める生理学的に特異的な活動を示すグルコース受容ニューロン¹³⁾ は、特異的な蛋白構造をもつグルコース受容膜を所有していると考えられる。したがってVMHを抗原としてその特有な抗体が作成できれば、その抗体をグルコース受容ニューロンに微量投与することにより免疫反応を単一ニューロンレベルで電気生理学的に明らかにすることができるはずである。

本実験でVMHグルコース受容ニューロンとその抗体の特有反応が起こることが確認された。この実験の一部は第25回国際生理学会 (Oomura^ら)¹⁸⁾ で発表した。

実験材料および実験法

I. 実験材料

抗原作成および電気生理学的実験は Wistar RB 46 の雌雄ラット (体重180~220g) 192匹、また抗体作成のために雌ウサギ (体重3~4 kg) 4羽を使用した。

II. 実験法

1. 免疫学的実験

1) 抗原作成：1回にラット40匹をエーテル麻酔し、約4°Cの冷室で頭頂骨を剥離し脳固定装置で König と Klippel¹⁹⁾ の脳地図にしたがい、VMH (F.4.6) と Cd (F.8.62) に計測されたメスの刃を用い割を入れることでこれらの部位にしるしをつけ、その後すぐにその脳全体を取り出した。双眼顕微鏡下で眼科用マイクロピンセットを用いVMHおよびCdを注意深くすみやかに取り出して集めた。これらを小型テ

フロンホモジェナイザー (Potter-Elvehjem 型0.5cc用) ですりつぶし、全蛋白量が20mg/mlになるように0.9%NaClで調整した。これらホモジェネート1ccと同量の Complete Freund Adjuvant (Iatron-Lab, 東京)とをよく混合し、すぐにこれを1匹のウサギの指先、胸部や腹部の皮下に注射した。肝、腎および大脳皮質も同様にすりつぶし、蛋白量が20mg/mlになるように0.9%NaClで調整後、ラット血清や残ったVMHやCdのホモジェネートと共に -30°C で保存した。

2) 抗体作成：抗VMHおよび抗Cd血清を作るために、それぞれ2羽のウサギを用いた。ホモジェネート-Adjuvant 混合液の注射は2週間おきに合計4回おこない、その間毎日神経学的検査を行なった。Cd抗原を注射したウサギの1羽は、第3回目の抗原注射後3日目より Experimental Allergic Encephalomyelitis (E. A. E.) の症状を示した。このウサギに関しては、この時以後の血液を実験に使用しなかった。

血液試料を第1回目の注射直前、また第2回目、第3回目、第4回目の注射直前および第4回の注射後2週間目にそれぞれ耳動脈より約40CC採血した。そして第1回目注射直前に採血された血液の血清成分を対照ウサギ血清とし、その他のものは被検用として用いた。

採血後すぐに恒温槽に 37°C で2時間放置し血球凝集させた後、血清だけ採集して -30°C で保存した。

2. 電気生理学の実験

32匹のラットに軽度のエーテル麻酔下(足趾に痛み刺激を与えると逃避反射を起こす程度)、脳波上中等度徐波を示す状態下で急性実験を行なった。体温は $36.5\sim 38.0^{\circ}\text{C}$ に保った。頭部を脳固定装置に固定した後開頭し、そこを Ringer 寒天でおおい、脳の乾燥と呼吸による動揺を防いだ。

1) 微小電極：5連微小電極は大村らの方法²⁰⁾で作成した。電極先端の直径は 1μ 以内とし、中心電極のd.C.抵抗は $20\sim 100\text{M}\Omega$ 、また周囲の薬物や血清含有電極のそれは $10\text{M}\Omega$ 以上のものを使用した。

中心記録電極には4MNaClを、周囲の4本の電極には次のものをつめた。すなわち抗VMH血清とその1/10体積のCd抗原との混合液(以下 anti-VMH と記す)。抗Cd血清とその1/10体積のVMH抗原(anti-Cd)、対照ウサギ血清、および 165mM のNaClを含む 0.4M のグルコース液または 2M monosodium-l-glutamate。

これら血清は電極につめる直前に必要な量だけ凍結

状態のまま取り出し、融解して使用した。また上記薬物および血清をつめた後、これら電極はすみやかに $2\sim 4^{\circ}\text{C}$ 下に保存され3週間以内に使用した。3週間以内に使用しなかったものは廃棄した。

2) 記録と刺激部位：5連微小電極およびステンレススチール製同心双極刺激電極は、König と Klippel¹⁹⁾の脳地図にしたがってそれぞれ目的部に刺入した。前者はVMH (A,4.62; L,0.50; H,-2.4 \sim -3.2)とLH (A,4.62; L,1.50; H,-2.0 \sim -3.4)において単一ニューロン活動を記録した。後者はOomura ら²¹⁾と小野²²⁾の扁桃核基底核の外側部(外側主核)(AL)が摂食機能に密接に関係している事実を証明した実験に基づき、扁桃核外側主核(AL) (A,4.11; L,3.80; H,-3.30)へ刺入した。

3) 血清および薬物の投与：血清および薬物を定電流装置²³⁾を用い電気泳動的浸透的¹³⁾²⁴⁾に投与した。多連微小電極からグルタミン酸は負の電流で、またグルコースおよび血清は正あるいは負の電流でも放出できた。薬物の効果と与えた電流自身の効果との鑑別にはCurtis と Koizumi²⁵⁾、Oomura ら²⁶⁾の Criteria にしたがった。

4) データ処理：5連微小電極より前置増巾器(Ooyama ら)²⁷⁾を通して記録した単一ニューロン活動を、ブラウン管オシロスコープで観察すると同時にデータレコーダーで磁気テープに収録する一方、大村ら²⁰⁾の改良型パルスカウンターを通して、モニターした。早い現象の判定にはフィルムで確かめた。

5) 電極刺入部位確認：実験終了後、刺激や記録部位に直流通電(5mA, 15sec)を行ない、電極先端に空腔を作った。10%中性ホルマリンを左心室から約70cmの水圧で灌流することにより、脳を固定し、その後ニッスル染色をしてその電極刺入部位を解剖学的に確認した。

結 果

I. 免疫学的実験

寒天板法を用いて抗原抗体反応を免疫学的沈降反応から分析した。抗VMHや抗Cd血清とVMH, Cd, 大脳皮質, 肝, 腎ホモジェネートおよびラット血清との間には、それぞれ数本の沈降線が認められた。しかし対照ウサギ血清とこれらのホモジェネートやラット血清との間には1本の沈降線もなかった。このことは対照ウサギ血清にはこれらに対する抗体が存在しないことを意味する。

さて、この抗VMHや抗Cd血清それぞれに、約1/50体積のラット血清を混合してこの血清との共通抗体

を吸収すると、これら抗体とVMH抗原やCd抗原それぞれとの間には沈降線が1本現われるにすぎない。またラット血清との沈降線は完全に消失した(図1)。また第4回目に採血し、すでにラット血清で共通抗体を吸収された抗VMH血清は、VMH抗原およびCd抗原との間にそれぞれ1本ずつの沈降線を示した。ところがさらにこの抗VMH血清に1/10体積のCd抗原を加えると、この抗体とVMH抗原との間の沈降線はそのまま存在したが、Cd抗原とのものは消失してしまった(図2)。このことで抗VMH血清内に存在していたCd抗原との共通抗体が吸収され消えたわけである。しかし抗VMH血清は、これにCd抗原を入れ共通抗体を吸収する前後とも変わらず、VMH抗原とは1本の沈降線を示しただけである。

もしVMH抗原とCd抗原との間に共通成分があるとすると、VMH抗原には、VMHだけに特異的な抗原がCdにもある。一すなわち脳一般にある抗原など複数の抗原を含んでいることになる。そこで抗VMH血清とVMH抗原との間には複数の沈降線が現われるが、この血清をCd抗原で吸収するとこれらの沈降線の数が減少するはずである。しかし本実験ではこのようなことは現われなかった。したがってVMHとCd抗原の間には共通成分を最初から持たなかったのか、もしそれが存在したとしても微弱であったので、明瞭な沈降線を示さなかったとも考えられる。これらのことから、抗VMH血清中には、ラット血清およびCd抗原に

に対する共通抗体を除いた後は、VMH抗原に対する特異的抗体だけが存在したと考えてよい。

従って5連微小電極には次のような抗血清を用いた。4回目にウサギから採血した抗VMH血清に、これの1/10体積のCd抗原を加えて被検抗血清とした。また対照として同時期の抗Cd血清に同様な割合のVMH抗原を加えて用いた。VMH抗原を加えたわけは、抗Cd血清中にVMH抗原との共通成分の存在する可能性を除外するためである。

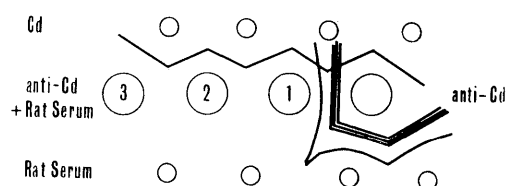
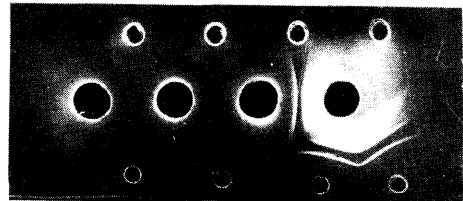
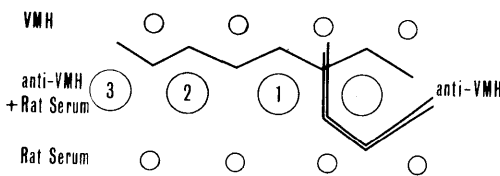
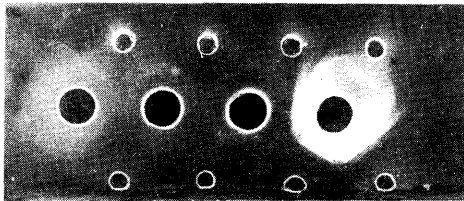
さらにこれらの抗血清にラット血清を加えなかったのは、これを加えると体積増加により有効抗体価の稀釈が起こることを避けるためと、抗VMHや抗Cd血清ともラット血清に対する抗体を含有するから、これらの両抗血清が同じ反応を示すことより、ラット血清成分に対する抗体の関与が推察できると考えたからである。

II. 電気生理学的実験

正負どちら方向の電流で抗血清が多連微小電極から放出されるかを確認するために図3で示す実験を行った。

図3Aは anti-VMH を正電流でVMHニューロンに放出したものである。anti-VMH を+5 nAで投与すると、投与後7秒以内に放電頻度に抑制が見られる。しかし著明ではない。その後電流強度を10および15nAと増加するに伴ってその抑制は強くなり、+20 nAでは完全に放電が停止した。また同一ニューロン

図1 寒天板法。左：上例はVMH抗原。中例右端は抗VMH血清のみ。(1)はこの血清に、これの1/50体積のラット血清を加え抗ラット血清成分を吸収した。(2)、(3)はこの2、3倍のラット血清を加えた。下例は対照としてのラット血清。抗VMH血清とラット血清との沈降線は、これで吸収後消えたが、VMH抗原とのものは残った。右：同様のことを抗Cd血清について行なったところ、同様の結果を得た。



で負電流について行なうと(図3B), まず anti-VMH, -5 nAで投与後4秒で放電頻度に抑制が見えはじめ, -10, 15および20nAと増加するにつれて抑制は著明になっている。しかしこの場合は-20nAでも放電の完全な停止はみられなかった。

これらのことから, 抗血清は電流の正負によらず電気浸透圧的に多連微小電極から放出されると考えられる。

1. VMHニューロンについて

組織学的に確認されたVMHニューロン83個のうち, 80個に anti-VMH を投与したところ, その作用による放電様式は大きく分けて次の4型になった。

1) 放電頻度の増加: この形式のものは anti-VMHを投与すると潜時4~30secで放電頻度が増加するニューロンである。この放電様式は4ニューロンに見られた。これらのうち1個にグルコース投与をおこなったが無効であった。しかしこのニューロンは anti-Cd や正常ウサギ血清の投与にも放電の増加を示し

図2 寒天板法。中心:(上)ラット血清ですでに吸収した抗VMH血清(*anti-VMH)+Cd抗原(下)ラット血清で吸収した抗VMH血清, 右:Cd抗原, 左:VMH抗原。

*anti-VMHをCd抗原で吸収した後もVMH抗原との間には沈降線が見られた。

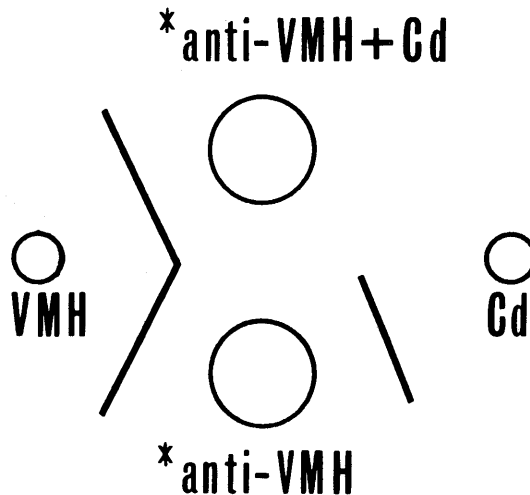
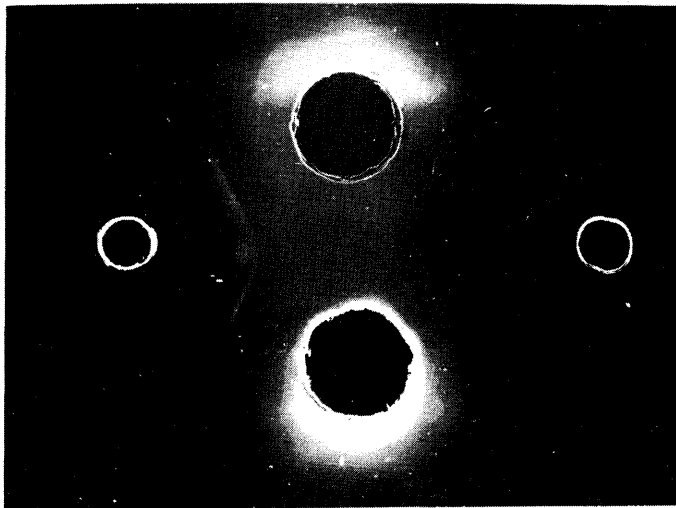
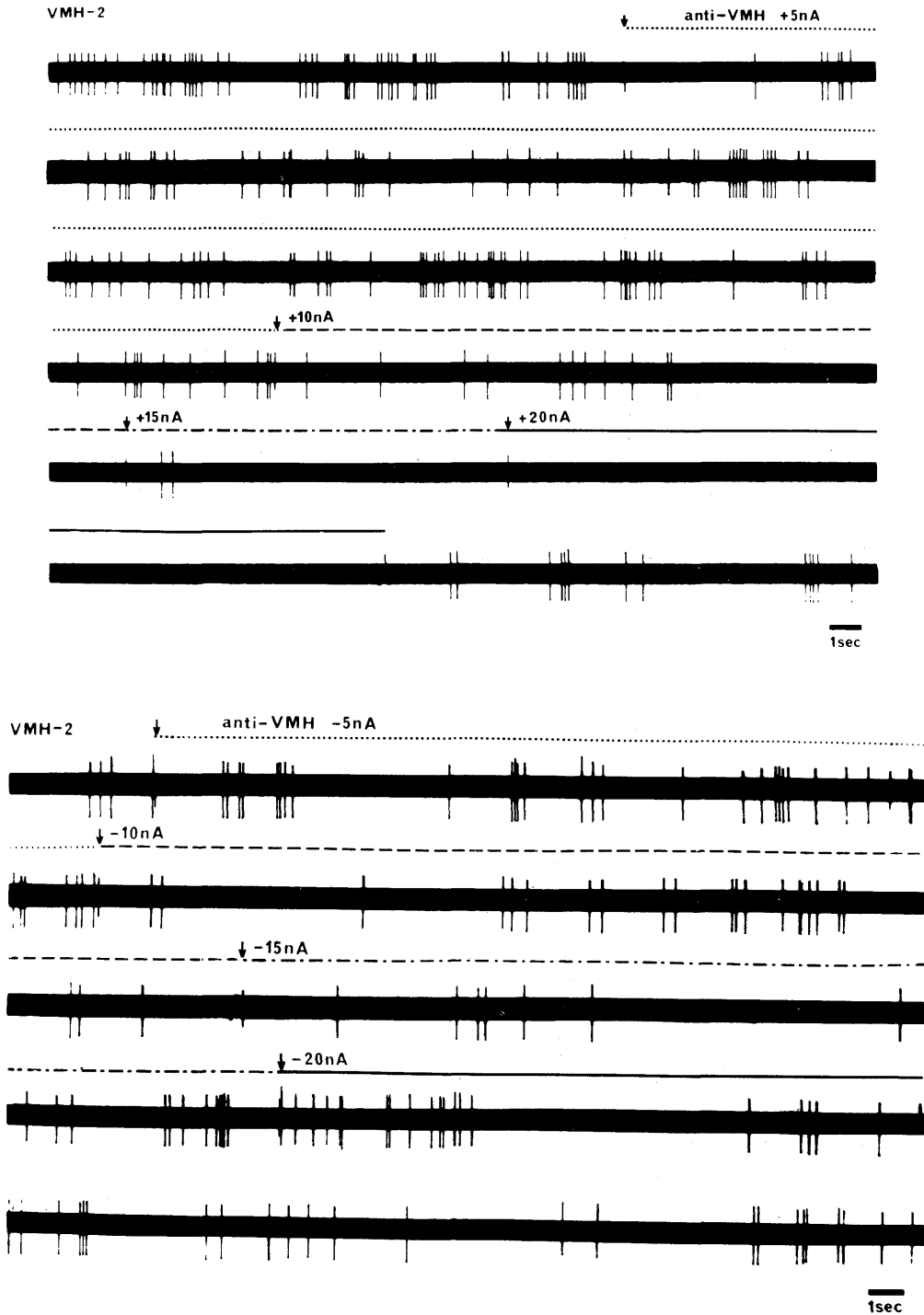


図3 VMH-ニューロン. (A) : anti-VMHを+5, +10, +15や+20nAでの投与に伴ない, より強い抑制が起きた. (B) : 同様なことが同一ニューロンで負の電流の投与でも起きた.



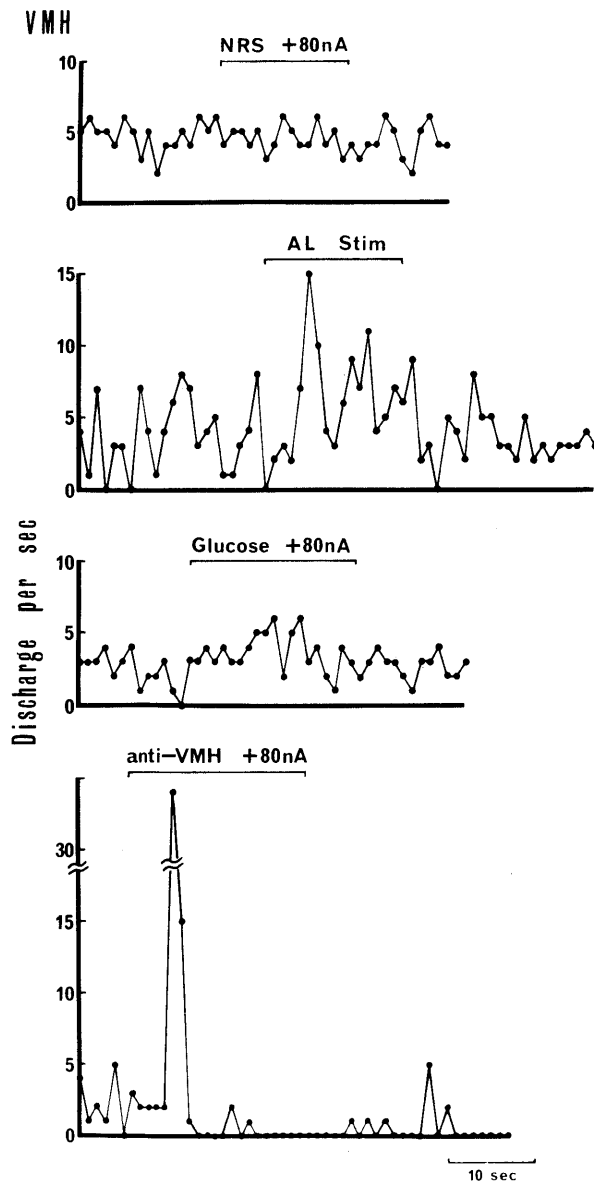
ている。またこれら血清はすべて正の電流で投与した。それゆえこのニューロンに対する効果には血清中に存在するカチオンたとえば K^+ などの関与が考えられる。

残り3個中2個には正常ウサギ血清を正の電流で投与したが無効であった。このことから、上述のカチオンの作用以外に anti-VMH 自身の作用も存在する

と考えられる。それは単にVMHニューロンに促進的に働くのかあるいは、ii) で述べる型の力価の弱い抗体によるのかも知れない。同様なことはLHニューロンについても見られた。

2) 放電頻度の急増後消失：この放電様式は、採血後1ヵ月以内の抗VMH血清で検討した25個中6ニューロンに見られた。図4に示す1例はこの種のニ

図4 VMHグルコース受容ニューロン。正常ウサギ血清の+80nA投与は無効果。ALの8V、0.8Hz刺激で放電増加。グルコースの+80nA投与で約7秒の潜時で放電増加。anti-VMHの+80nAでは6秒の潜時で2.1(±0.4S.E.) Hzから最高34Hzへと放電増加。投与後10秒から完全放電消失。図には示さなかったが、以後20分間の観察では放電回復が見られなかった。



ニューロンの代表的なものである。すなわち anti-VMH の投与前に対照の正常ウサギ血清を+80nAで投与したが無効であった。このニューロンにALを8Vで0.8Hzで20秒間刺激すると放電頻度は3.7 (± 0.5 S.E.) Hzから7.4 (± 0.9 S.E.) Hzへと放電頻度の増加を示した。またグルコースを+80nAで投与すると、2.5 (± 0.3 S.E.) Hzから3.7 (± 0.4 S.E.) Hzへと7秒の潜時で反応し有意の上昇を示している。さて anti-VMH を+80nAで投与すると6秒の潜時で2.1 (± 0.4 S.E.) Hzから最高34Hzへと放電頻度が急増したが、投与後10秒から完全放電消失が始まった。以後1~5Hzの放電回復を10回示した。しかし図に示していないが、その後20分観察したが、この間1回の放電も認められなかった。このニューロンはAL刺激とグルコースに対する反応からグルコース受容ニューロンで、満腹機序に関与するものと考えられる (Oomura¹³⁾, Oomura²⁸⁾)。また anti-VMH 投与で起きた放電の頻度急増後消失する現象は、これら両血清を正の電流で投与したが正常ウサギ血清が無効であったことから、血清中一般に存在する因子、たとえばK⁺などカチオンによる効果ではなく anti-VMH の特異的な作用によると考えられる。

また他の3ニューロンについて anti-VMH の作用様式を図5に示した。上段のニューロンは、anti-VMH を+10nAで投与すると2秒で8.0 (± 0.5 S.E.) Hzから最高12Hzまでに増加し、その後3秒から放電消失が始まったが最高2Hzと1Hzの放電回復を2回示したあと20分以内には1回の放電も見られなかった。中段のニューロンは、anti-VMH を+100nAで投与すると9秒の潜時で放電は15.3 (± 0.9 S.E.) Hzから急増し最高42Hzに達した。その後5秒から完全に放電が消失し、以後20分間には1回の放電も認められなかった。下段は別のニューロンで実際放電記録を示したものである。これに anti-VMH を+10nAで投与後8秒で12.1 (± 0.6 S.E.) Hzから急増し最高35Hzに至った。この急増に伴い活動電位振巾は低下し消失していくのが見られる。このことは anti-VMH によるニューロン膜の急激な脱分極および損傷を示すものであろう。

また図には示さなかったが、グルコース、anti-Cdと正常ウサギ血清では反応なく、anti-VMH だけに対して放電頻度増加を伴う消失を示したニューロンが1個あった。グルコースでの反応のないことからこれは、グルコース受容ニューロンではない、グルコース受容ニューロンだけでなく、一般の非グルコース受容ニューロンにも anti-VMH は以上の放電様式で

反応するものがあることがわかった。これらの割合については後述する。またLHニューロンの項についてくわしく述べるが、LHニューロンと anti-VMH がこの放電様式を示し反応したものは1例もない。これらのことからこの様式を誘起する anti-VMH は部位特異的な抗体と考えられる。

われわれは細胞外誘導で電極を脳内に挿入中この放電様式にはしばしば遭遇する。しかし通常このような頻度の急増現象が現われたらすぐ電極を2~3 μ 引きあげることにより、その前の低頻度の自発放電に回復させることができる。したがってこの現象は電極進行による機械的な細胞障害と考えデータより除外している。

ところで本実験で急増する放電様式を示したニューロンにわずかに電極を引きあげてを試みたが、その放電頻度の急増をおさえることはできなかった。従ってこの現象は電極による機械的な細胞障害ではなく anti-VMH そのものの作用である。

これらすべて採血後1ヵ月以内の anti-VMH で得られた結果である。また採血後2ヵ月以上たった anti-VMH でも、20個に2分間これを投与しつづけると2個のニューロンにおいて上と同様、放電急増を伴う消失が起こっていた。このことから2ヵ月たった抗体では抗体価の低下が考えられる。これらの反応はすべて正の電流での投与によって引き起こされているから、正の電位をもった電解質などの相乗作用の存在の可能性はある。しかし正常ウサギ血清や anti-Cd が無効であることから、このことは除外できるであろう。

3) 放電抑制：この放電様式は32ニューロンに見られた。これらのニューロンのうち12個についてはグルコース投与も行ったが、11個はグルコースで放電頻度の増加をきたし、1個だけが変化しなかった。

図6はグルコースで放電頻度の増加を示したものの1例で図3のニューロンと同一のものである。すなわち0.4 (± 0.2 S.E.) Hzの放電頻度が、グルコースを+15nAで投与すると潜時約4秒で1.3 (± 0.2 S.E.) Hzと約4倍の放電増加を示した。グルコース投与後もこの効果は長く残り、1.8 (± 0.3 S.E.) Hzの放電を示した。この投与終了後11秒でもこの効果は強く残っていたが、ここで anti-VMH を-15nAで投与するとこのニューロンは放電頻度の抑制を示し、6秒後に0.3 (± 0.1 S.E.) Hzに放電が抑制された。このニューロンに anti-VMH 投与中、グルコースを再度+15nAで投与すると、11秒もかかって放電頻度が回復し1.7 (± 0.3 S.E.) Hzに増加を示した。このニューロンに anti-Cd

図5 VMHニューロン。これらはanti-VMH投与で放電急増後消失し、20分以内には回復が見られなかったものである。抗血清は採血1カ月以内のもの。

上； anti-VMHを+10nAで投与。2秒の潜時で8.0 (± 0.5 S.E.) Hzから最高12Hzへと放電増加。投与後11秒から完全に放電抑制。

中； anti-VMHを+100nAで投与。9秒の潜時で15.3 (± 0.9 S.E.) Hzから最高42Hzへと放電増加。投与後すぐに放電抑制。

下； anti-VMHを+10nAで投与。8秒の潜時で12.1 (± 0.6 S.E.) Hzから最高35Hzへと放電増加。放電急増に伴い、活動電位振巾が低下し消失していくのが見られた。

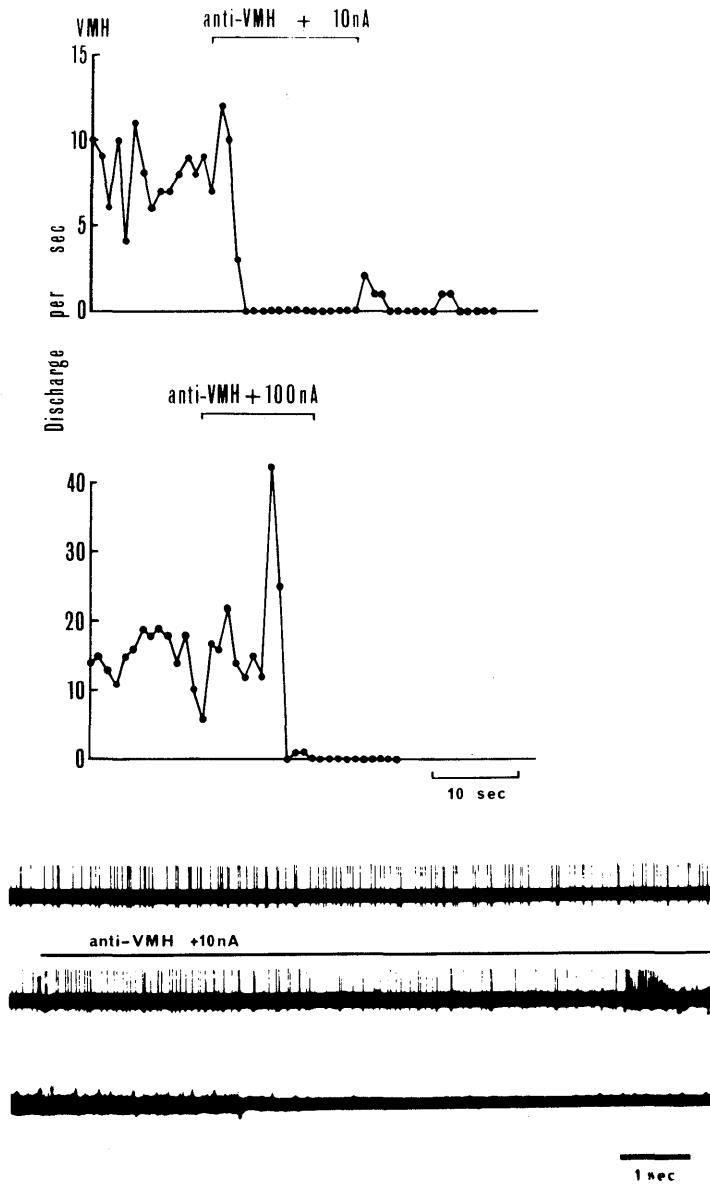
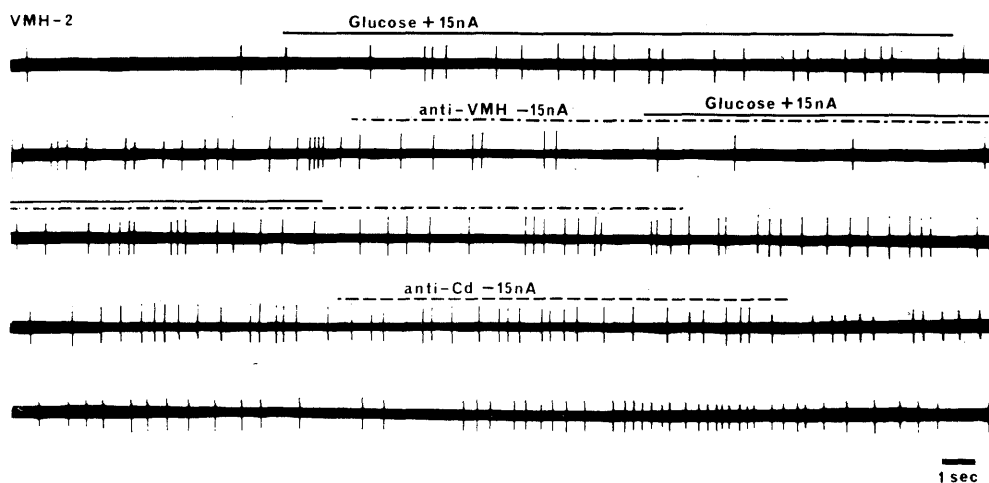


図6 VMHグルコース受容ニューロン. グルコースを+15nAで投与. 潜時4秒で0.4 (± 0.2 S.E.) Hzから1.3 (± 0.2 S.E.) Hzへと放電増加. 後効果は11秒すぎても1.8 (± 0.3 S.E.) Hzと強かった. そこへanti-VMHを-15nAで投与. 潜時約6秒で0.3 (± 0.1 S.E.) Hzと放電抑制. anti-VMH投与終了前にグルコースを+15nAで投与. 約11秒かかって放電頻度が回復し, 1.7 (± 0.3 S.E.) Hzに増加した. anti-Cdの-15nA投与は無効果.



を-15nAで投与したが無効であった.

図7Aのニューロンにおいて, 正常ウサギ血清やanti-Cdを-20nAで投与したが無効であった. しかし anti-VMHを-20nAで投与すると約4秒で放電は5.2 (± 0.2 S.E.)Hzから2.2 (± 0.2 S.E.)Hzへと抑制された. この後効果は約4秒つづいている. また4.2 (± 0.1 S.E.)Hzの放電頻度がグルコースを+20nAで投与すると, 約4秒後放電頻度増加が始まり15秒後で6.8 (± 0.2 S.E.)Hzにまで増加し, 後効果は約7秒つづいている. すなわちグルコース受容ニューロンでanti-VMHだけに特異的に反応したわけである. さて, 同記のことを再度くりかえしてみると anti-VMH投与で, 放電が完全におさえられているところへグルコースを+20nAで投与したが, 放電頻度増加は起こっていない(図7A右端).すなわちグルコースの受容部位は anti-VMHで結合され, グルコースの結合がさまたげられたと考えられる. このニューロンは, 図には示してないが, その後2.5分で放電頻度は回復した.

グルコースで放電増加を示した11個のニューロン中, 10個には anti-Cdを投与したが, 8個には無効であった. 残り2ニューロンだけが5~8秒の潜時で20~25%の抑制を示した. 前者と後者の反応の相違についてははっきりしていない. しかし, anti-Cdは

その電極作成直前に抗Cd血清にVMH抗原を混合したものであるからその際のわずかな混合の相違により抗Cd血清にCdとVMHとの共通成分が微量残っていたため, anti-Cdの抑制が起こったと考えられる. anti-Cdを投与した残り8ニューロンにはこれは無効であった. さらにまた正常ウサギ血清投与でこれらのグルコース受容ニューロン中放電抑制の起こったものは1例もなかった.

anti-VMHの投与で抑制されたニューロン32個中20個については, グルコース投与は試みられなかった. これらのうちの1例を図7Bに示す.

図7Bのニューロンは, 17.9 (± 0.9 S.E.)Hzで放電しているところへ anti-VMHを-20nAで投与した. 約10秒の潜時で抑制がはじまり, 1.5分後に3.3 (± 0.3 S.E.)Hzと低頻度になった. この投与後約40秒から急激に放電頻度上昇を示し最高46Hzに達したが, 約16秒後には15.5 (± 1.4 S.E.)Hzと投与前の放電に近く回復している. その後 anti-Cdや正常ウサギ血清をそれぞれ-20nAで投与しても抑制は見られていない. 再度 anti-VMHを+20nAで投与すると約20秒から抑制が始まり, 2分後には18.0 (± 0.8 S.E.)Hzから3.1 (± 0.4 S.E.)Hzにまで抑制された. 投与後約1.6分前に同様急激な放電回復を示し, 17.9 (± 1.2 S.E.)Hzとなった. この急激な放電頻度上昇は, この強い抑制後

図7A VMHグルコース受容ニューロン. 正常ウサギ血清やanti-Cdの-20nA投与は無効果. anti-VMHを-20nAで投与. 約4秒の潜時で5.2 (± 0.2 S.E.) Hzから2.2 (± 0.2 S.E.) Hzへと抑制. 後効果は約4秒つづいた. グルコースを+20nAで投与. 約4秒の潜時で放電増加開始. 15秒後では4.2 (± 0.1 S.E.) Hzから6.8 (± 0.2 S.E.) Hzになった. 後効果は約7秒つづく. 正常ウサギ血清やanti-Cdの+20nA投与は無効果. anti-VMHでの完全放電抑制は, グルコースの+20nA投与では回復なし. 図には示していないが, このあと約2.5分で自発放電の回復を示した.

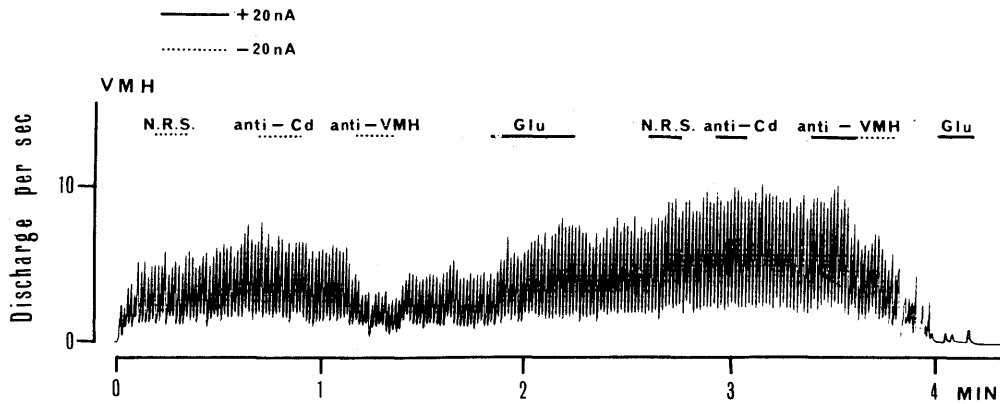
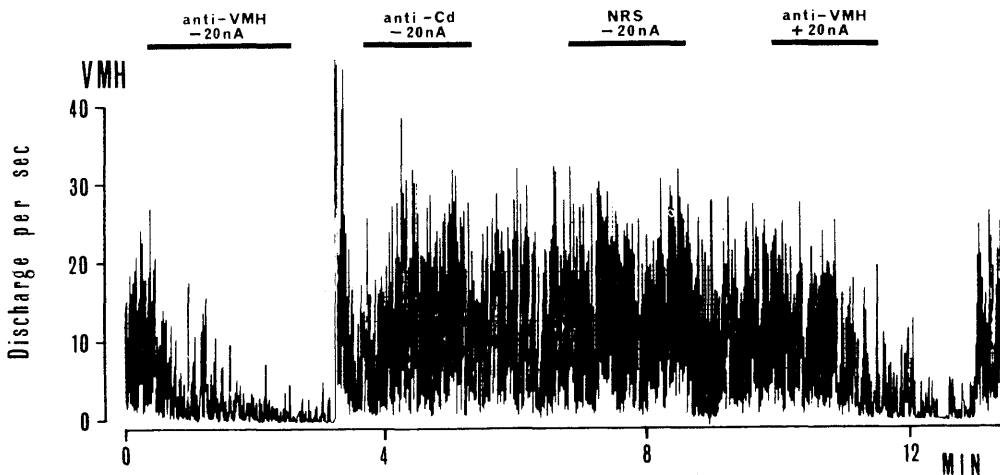


図7B VMHニューロン. anti-VMHを-20nAで投与. 約10秒の潜時で放電抑制. 1.5分後では17.9 (± 0.9 S.E.) Hzから3.3 (± 0.3 S.E.) Hzになった. 投与後約40秒から急激な放電上昇. 約16秒後には15.5 (± 1.4 S.E.) Hzと回復した. anti-Cdや正常ウサギ血清の-20nA投与は無効果. anti-VMHの+20nA投与でも負電流の投与と同様な効果があった.



のはね返りではないだろうか。

これら20ニューロン中8個に正常ウサギ血清を投与したが、全例無効であり、またこれらの6個に anti-Cd を投与したが同様に無効であった。この6個のニューロン中2個についてはALを8 V0.8Hzで刺激したところ、これらは約20%の放電頻度増加を示した。AL刺激に対する反応から、この2ニューロンは摂食行動の満腹機序に関係するもの、すなわちグルコース受容ニューロンと考えられる。以上、anti-VMH で抑制されるこれらの32個のニューロンは5秒から30秒の短い潜時で anti-VMH に反応し2秒以上の後効果を残している。

4) 無効果： anti-VMH が無効果のVMHニューロンは36個あった。これらのニューロン27個についてグルコース投与を行なったところ、放電頻度の増加をしたニューロンは5個(98%)で、残り22個(72%)のニューロンは無反応であった。前記5ニューロン中4個に正常ウサギ血清を投与すると、2個は放電の増加を示し、またさらに anti-Cd を投与しても同様に増加した。他の2個は正常ウサギ血清には応じなかった。

グルコースで応じなかった22ニューロン中17個に正常ウサギ血清と anti-Cd を投与したが、これらすべ

てのニューロンには無効であった。残りの1個には正常ウサギ血清を投与したが無効であった。

グルコース投与を試みられず、anti-VMH が無効の9ニューロンのうち、4個には正常ウサギ血清や anti-Cd を投与したが無効であった。残り5個のうち4個には正常ウサギ血清だけを投与したが、これもまた無効であった。

以上の結果を anti-VMH については表1Aに、また表1Bにはグルコースについてまとめて示した。

ここでVMHニューロンに対する anti-VMH の抑制作用の有意性を McNemar test で検定してみた。表1Aから anti-VMH で抑制され anti-Cd では無効であったもの15個をAとし、anti-Cd でも抑制されたもの2個をBとする。また anti-VMH が無効で anti-Cd も無効であった21個をCとし、anti-Cd が抑制した1個をDとする。anti-VMH だけで抑制されたAと anti-Cd だけで抑制されたDとが一致すると仮定し計算すると $X^2=10.6$ となり $P<1/2(0.01)=0.005$ でAとDとが一致する可能性は非常に小さい。従って anti-VMH が有意にVMHニューロンだけに特異的に抑制したのである ($P<0.005$)。同様に anti-VMH と正常ウサギ血清を比較しても anti-VMH は特異的にVMHニューロンに作用したこ

表1 A, B ; ↑ : 放電増加, ↑→injury または ↑→ : 放電急増後消失, ↓ : 放電減少, NC : 変化なし。

A

	anti-VMH	anti-Cd			N R S			AL S tim		
		↑	↓	nc	↑	↓	nc	↑	↓	nc
VMH unit (80)	↑	4	1		1	2				
	↑ → injury	8		1		2	1			
	↓	32	2	15	3	18	4			
	nc	36	3	1	21	3	28			2

B

	Glucose		anti-VMH				anti-Cd			N R S		
	↑	nc	↑	↑→	↓	nc	↑	↓	nc	↑	↓	nc
VMH unit (46)	↑	19	1	11	5		2	2	8	6		9
	↓											
	nc	27	1	1	1	22	2		19	2		19

とがわかる ($P < 0.0005$). さらに Fisher の直接確率計算法を用いて, 表 1Bよりグルコース受容ニューロンと anti-VMH の関係について検討してみた.

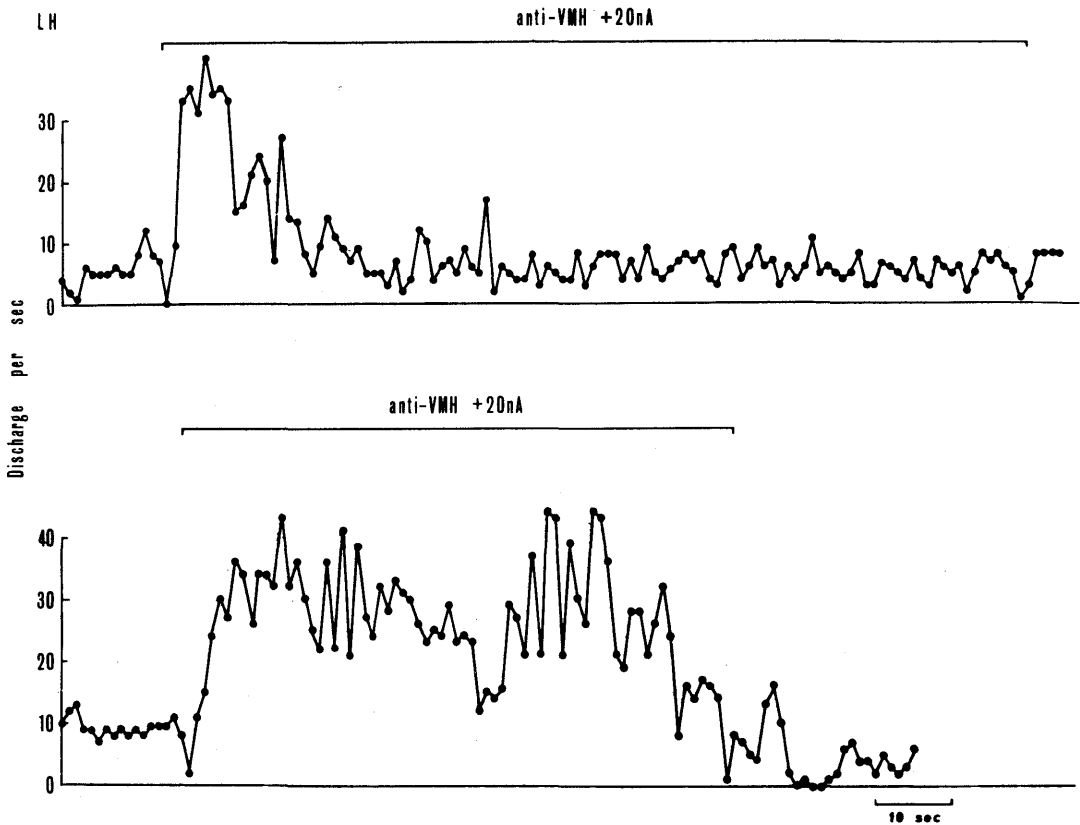
グルコースで放電頻度上昇をきたしたグルコース受容ニューロン19個中17個は anti-VMH での応答が調べられている. つまりこの17個中11個が anti-VMH で抑制されている. ここで anti-VMH で頻度が急増後消失した1個は単なる抑制だけのものと区別した. これらには anti-Cd 投与でもわずかに抑制されたものが2個含まれている. これを差引くと anti-VMH だけで抑制されたものは9個である. そこでこの9個および anti-VMH では抑制されなかった5個および頻度急増後消失の1個を加えた6個をA群とする. さて, グルコース投与が無効であったニューロンは27個である. このうち25個について anti-VMH を投与したが, 1個だけが anti-VMH で抑制されている. そこでこの1個および anti-VMH では抑

制されなかった24個をB群とする. A群とB群との一致度Pは $P = 0.0001$ である. すなわちこのことはVMHニューロンがグルコースとの反応とは関係なく anti-VMH で抑制されるものが現われる危険率は0.01%にすぎないことを意味している. 言いかえると, グルコースで放電頻度増加をきたすVMHのグルコース受容ニューロンは, anti-VMH で特異的に抑制されたことになる.

2. LHニューロンについて

LHニューロン中には, グルコースで抑制されるグルコース感受性ニューロンが1/3, グルコースで促進されるものが1/3存在する. 前者は摂食に関与し, 後者は浸透圧受容ニューロンで飲水に関与するものである (Oomura ら¹³⁾, Oomura²⁸⁾). またALの電気刺激で抑制されるLHニューロンが存在するがこれもおそらく摂食飲水に関与するものである(Oomura ら²¹⁾). さて, 組織学的に確認されたLHニューロン21個に

図8 LHニューロン. anti-VMHを+20nAで投与した. 上段のニューロンは約3秒の潜時で5.6 (± 0.7 S.E.) Hzから34.4 (± 1.1 S.E.) Hzへと急激な放電増加. 以後約23秒で投与前の放電に回復した. 下段のニューロンは約5秒の潜時で9.3 (± 0.4 S.E.) Hzから27.4 (± 1.1 S.E.) Hzへと放電増加. 後効果は約7秒あった.



ついて anti-VMH の効果を、また、そのうち 9 個はグルコースの効果を調べた。

1) 抑制： 21ニューロン中 anti-VMH で放電が抑制されたものや放電消失をきたした例は 1 例もなかった。

2) 放電頻度上昇： anti-VMH 投与により放電頻度の増加した LHニューロンは、21個中 5 個 (24%) あった。その 2 例を図 8 に示している。図上のニューロンは anti-VMH +20nA で投与すると約 3 秒で 5.6 (±0.7S. E.)Hz から 34.4 (±1.1S. E.)Hz へと急激な放電増加を示している。その後約 23 秒ですでに 6.4 (±0.5 S. E.)Hz にまで放電が回復している。anti-VMH 投与は、その後約 1 分で中止した。図下のニューロンは同じ電流強度で anti-VMH を投与して、約 5 秒で 9.3 (±0.4S. E.)Hz から 27.4 (±1.1S. E.)Hz にまで放電増加を示している。この後効果は約 7 秒持続した。

anti-VMH 投与で増加を示すこれら 5 ニューロン中 2 個にグルコースを投与すると、1 個は放電頻度の増加を示した。このニューロンは正常ウサギ血清投与でもその増加を示した。したがってこのニューロンは浸透圧の影響を受けて反応する浸透圧感受ニューロンであろう。残り 1 ニューロンは、グルコースで抑制されたが正常ウサギ血清には応じていない。このニューロンに対するグルコースおよび anti-VMH の作用は VMHニューロンで見られたグルコース受容ニューロンのそれと相反しているようにみえるが、後に

統計を用いて検討する。

anti-VMH で放電頻度を増加する残り 3 ニューロンはすべて anti-Cd 投与が無効であった。さらにそのうち 2 個は正常ウサギ血清を投与しても無効であった。これら 2 ニューロン中 1 個に AL の 5 V で 0.8Hz の反復刺激を行うと抑制された。

3) 無効： anti-VMH 投与が無効であった LHニューロンは 21個中 16 個 (76%) であった。そのうち 7 個にグルコース投与をしたが、1 個が抑制された以外はすべて無効であった。このグルコースが無効であった 6 個は正常ウサギ血清も無効であった。この 6 個中 3 個に anti-Cd を投与したが、1 個は放電増加をし他の 2 個は抑制された。上のグルコースで抑制された 1 個は、正常ウサギ血清では応じていない。

anti-VMH が無効であってグルコースを試していないニューロンは 9 個である。この 9 ニューロン中 6 個に anti-Cd を投与すると、この投与は 5 個 (83%) のニューロンに無効であったが、1 個だけ放電頻度増加が起こった。この 1 個には正常ウサギ血清の投与でもその増加があった。anti-Cd 投与が無効であった上の 5 ニューロン中 3 個には正常ウサギ血清の投与も行なったが、これもすべてに無効であった。anti-Cd で試されていない他の 3 個のニューロンには、正常ウサギ血清投与を行なったが無効であった。この 3 個中 1 個は AL の 5 V 0.8Hz の反復刺激で抑制を示している。

表 2 A, B; ↑: 放電増加, ↑→injury または ↑→: 放電急増後消失,
↓: 放電減少, NC: 変化なし。

A

anti-VMH			anti-Cd			N R S			AL Stim		
	↑	↓ nc	↑	↓	nc	↑	↓	nc	↑	↓	nc
LH	↑	5			3	1		3			1
unit (21)	nc	16	2		7	1		13			1

B

Glucose			anti-VMH			anti-Cd			N R S		
	↑	↓ nc	↑	↓	nc	↑	↓	nc	↑	↓	nc
LH	↑	1	1						1		
unit (6)	↓	2	1		1						2
	nc	6			6	1		2			6

以上の結果を表2Aには anti-VMH について、表2Bにはグルコースについて示した。

anti-VMH で放電頻度が増加するVMHのグルコース受容ニューロンと、このLHニューロンとの相違を統計的に検討するために次のことを行なった。グルコースを投与したLHニューロン9個で、グルコースで抑制される2個中1個は anti-VMH で放電頻度増加を示している。この1個と、anti-VMH で増加しなかった1個をA群とする。さて、グルコースで無効だった6ニューロンは、anti-VMH で放電頻度を1例も増加しなかった。これをB群とする。

これらA群とB群の一致度Pを直接確率計算法で計算すると $P=0.125$ となる。このことはA群とB群間には有意差がない。すなわちLHのグルコース感受性ニューロンに対する anti-VMH の作用は非グルコース感受性ニューロンに対するそれと差がないことを意味している。つまり、anti-VMHは、LHグルコース感受性ニューロンに特異的に促進作用をもたないことになるが、例数が少ないから断定はさけない。

考 察

ラットVMH内には、グルコース受容ニューロンが存在し、これは他の脳部位にはない (Oomura ら¹³⁾。このグルコース受容ニューロンは、グルコース類似物である2-deoxy-グルコースや3-O-methyl-グルコースなどで無反応がかえって抑制される (大村²⁹⁾、Oomura²⁸⁾。これらのことからグルコース受容ニューロンは、特有のグルコース受容部位をもつと考えられる。したがって、その受容部には特異的な蛋白構造が存在するであろう。もしそうであれば、この構造に対し特異的抗体が産生されるはずである。

本実験においてanti-VMHは抗原であるVMHホモジェネートとだけ免疫学的に特有の沈降反応を示し、対照のCdホモジェネートとは無反応であった。またanti-VMHはVMHニューロンに対して特有の効果を生じ、対照としたanti-Cdや正常ラット血清は無効であった ($P<0.005$)。さらに、anti-VMHはVMHグルコース受容ニューロンにだけ特異的に作用して活動を抑制している ($P=0.0001$)。これら3つのことから最初の予想は充分実証されたと考えられる。

Anti-VMH

さて、血清中には色々なニューロンに作用する因子が含まれており、その作用も考えなければならない。たとえばグルコース受容ニューロンに特異的に作用するグルコース、インシュリンや遊離脂肪酸などがある (大村³⁰⁾。グルコースは促進的に、インシュリンや

遊離脂肪酸は抑制的にこのグルコース受容ニューロンに作用する。また一般促進剤であるグルタメートや神経伝達物質であるノルアドレナリンなど²⁶⁾、また血清蛋白質³¹⁾や電解質など細胞外の浸透圧や電解質バランスを変えるものの作用も考えなければならない。しかし、これらはanti-VMH、anti-Cdや正常ウサギ血清にすべて共通に存在するからこれらの血清投与ですべて同方向の反応が起こるはずである。本実験でanti-VMHで試したVMHニューロン80個中4個が、またLHニューロン21個中1個がこのような反応を示しただけであった。したがって、本実験でのanti-VMHの特有効果はこれら共通成分の効果を十分に打ち消すだけの強力な作用である。

放電の急増後消失するニューロン：貯蔵後1カ月以内のanti-VMHはVMHニューロンに対し、放電頻度を急増後活動を消失させるというニューロン膜の不可逆的な障害を惹起している。Waldら³²⁾によると大脳皮質の神経終末分画に対する抗血清は、補体の存在下でカタツムリ食道環ニューロンの電気泳動的ACh投与に対するACh—電位をまず消失させた。つまり、AChの受容部が最初に障害されたわけである。その後自発放電および逆行性刺激に対する反応が消失し、入力膜コンダクタンスも著明に増大した。そして、ニューロンを抗血清に浸した40分後では不可逆性変化であり、電顕的にも障害が起っていた (De Robertisら³³⁾)。その障害もニューロンのシナプス部および細胞体であった。本実験でもニューロン膜のコンダクタンス増大および膜の形態学的不可逆的变化をきたしたものと考えられる。

Mihailović と Čupić⁴³⁾はサルで anti-hippocampal γ -グロブリンや anti-Cd γ -グロブリンをそれぞれ海馬と尾状核に注入して、それら部位に異常脳波の発生をみた。抗体が他部位に注入されても異常はなかった。このことから脳での部位特異的抗体産生を彼等は強調している。本実験で不可逆的反応をしたニューロン中2例だけしかグルコースを投与しなかったが、グルコースに応じたもの1例、応じなかったもの1例であった。このことから直ちに結論を下すことは困難であるが、Mihailović らの言うように、グルコース受容部位だけでなく、VMH全体に対する部位特異的抗体を含有していたことも考えられる。

抑制ニューロン：anti-VMHが貯蔵後2カ月以上たち新鮮でなくなると、この効果は、グルコース受容ニューロン放電活動に対してだけ特異的に可逆性の抑制をもたらした ($P=0.0001$)。この特異性から、このanti-VMHには日数経過によっても抗体力価の低下

がみられないものを含有している。またその特異性からグルコース受容膜部に直接作用しているのではないかと考えられる。抑制の理由は受容部における膜コンダクタンス増大がその一要因であろう。しかしそうであれば脱分極による放電頻度の上昇がまずあるはずであるが、それはみられなかった。したがって、ニューロンの抑制が最初から起ったと考えなければならぬ。図7Bにみられるanti-VMHの作用の頻度回復の時のね返りはそれらを示しているのかも知れない。

Mihailović ら³¹⁾のanti-lobster 軸索抗体は lobster 軸索に作用して活動電位をブロックするが、それは抗体が神経膜内部の蛋白部位と結合するためであることを示した。その後イカ巨大神経の軸索原形質—抗体だけがそれを軸索内から作用させはじめて軸索活動電位をブロックすることが判明した (Huneus と Fernandez³⁵⁾)。したがって anti-VMH もグルコース受容部蛋白部位に特異的に作用したと考えられる。

本研究室の最近の研究で shellinger 法によって分離したニューロン分画およびグリヤ分画のグルコース結合能を測定した。ラットVMHや皮質ニューロンだけでなく、両者のグリヤ細胞にもグルコースを結合する部位が、 10^{-15} M/ μ g protein の order で存在する。その結合部位はニューロンおよびグリヤ細胞膜の subunit 中、分子量約6万の蛋白成分にあることが判明した (Oomura ら³⁶⁾)。この一般的グルコース結合部位とグルコース受容ニューロンの受容部位であるそれらが同一のもので、その密度の相違から、機能上の質的相違まで生じたのか、あるいはそれらがさらに複雑な蛋白構造上の相違をもつものか現在のところ不明である。しかし、グルコース受容部に対する示唆の結果であろう。本実験における反応の可逆性の理由として、i) 投与された抗血清は少量なので、その近辺の組織液に時間とともに稀釈されてゆき、不可逆的である形態的变化を示すに至らない、ii) 当該ニューロンでも抗体の結合しなかったグルコース受容部位が機能的代償を起すことなどが考えられる。上述のカタツムリニューロンの実験でも抗体に40分以上浸している場合に不可逆性の変化が起っている。(Wald ら³¹⁾、De Robertis ら³³⁾)。また組織培養した脊髄ニューロンを実験的アレルギー性脳炎罹患ウサギ血清に浸すと数分で誘発電位中のまづシナプス成分がその振巾を減少させるが、標準培養液にもどすとその回復がみられている (Bornstein と Crain³⁷⁾)。しかし抗体が1時間作用すると、シナプス部に形態

的变化が起こった。いずれにしろ、不可逆的な反応を生ずるためには、力価の強力なことはもちろんであるが、その作用時間が相当長時間である必要があろう。

反応潜時について：anti-VMHの効果は、多連微小電極から投与されたグルコースなどの薬物と同様に、一部のニューロンを除いては、30秒以内の短い潜時で現われている。

ニューロンは一般的に薄いアストログリア細胞で数層とりかこまれており、ニューロン膜と最内層のグリヤ膜との間隙は 150 \AA の大きさである³⁸⁾。いままでの実験ではインシュリン、アンジオテンシン等の分子は多連微小電極法で10秒以内にニューロンに容易に作用している (Oomura²⁸⁾、Oomura ら³⁹⁾)。一方免疫抗体を含む γ -グロブリンは大きさ $235 \times 44 \text{ \AA}$ で分子量 $156 \sim 300 \times 10^3$ である⁴⁰⁾。したがって、大きな分子が狭い間隙を通るのに時間がかかることは当然であるが、30秒以内に作用している。他の研究者のように抗血清に標本を浸した場合に反応時間が数分から数10分と、温度条件を無視して長いのは、この間隙通過が一要因である。しかし、本実験では、多連微小電極法を用いて1mV以上の活動電位を記録している。Nerson と Frank⁴¹⁾によると、この程度の振巾の活動電位の場合、記録電極の位置はニューロン膜から $10 \mu\text{m}$ 以内にあることになる。すなわち、これらの抗血清は、そのような近距離から投与されている。本実験での抗血清の作用が早く現われた理由の一つでなからうか。

イカの巨大神経の場合抗体を軸索から作用させても、数10分して効果が発現した。しかし軸索のブロックは細胞体やシナプスよりブロックされにくい³⁷⁾から抗体が内部から作用しても時間がかかるのであろう。本実験で記録された活動電位は持続1msec以上で細胞体かその近傍のものであり、軸索からのものではない。したがって反応時間の短いのは当然であろう。

結 論

ラットの満腹中枢である視床下部腹内側核 (VMH) の1/3をしめるグルコース受容ニューロンは、その受容膜が特異的な蛋白構造をもつと考えられる。VMHおよび対照として尾状核 (Cd) を取出し、ウサギに注射してこれらに対する抗血清を得た。ラット血清およびCd抗原で共通抗体を吸収された抗VMH血清は、VMH抗原と寒天板法で免疫性を検討し、1本の沈降線を残した。すなわち、抗VMH血清は、VMHに対し特異的抗体を持つことが確認された。

軽度のエーテル麻酔下で、多連微小電極法を用いてラットのVMHおよび摂食中枢である視床下部外側野

(LH) の単一ニューロン活動を記録しながら、次の血清をその記録ニューロンに電気浸透圧的に微量投与した。投与したものはCd抗原で吸収した抗VMH血清 (anti-VMH)、VMH抗原で吸収した抗Cd血清 (anti-Cd) および正常ウサギ血清である。anti-VMHは、80個のVMHや21個のLHニューロンの放電活動にたいして作用させた。そのうち効果のある場合は、30秒以内の潜時で反応した。

1. 採血後新鮮なanti-VMHは検索した25個のVMHニューロンの24%にたいし、不可逆的な放電急増後消失する放電様式を示した。古い抗血清では、この効果は遅れて発現した。

2. anti-VMHは、検索したVMHニューロンの40%を可逆的に抑制した。この効果は、VMHのグルコース受容ニューロンにだけ特異的であった ($P=0.0001$)。

3. anti-VMHは、VMHニューロンの4%を促進させた。

4. 対照として用いられたanti-Cdや正常ウサギ血清は、これらのVMHニューロンには無効であった ($P<0.005$)。

5. 検索したLHニューロンの24%は、anti-VMHで可逆的に促進されたが、1個のLHニューロンも抑制されなかった。

以上からanti-VMHは特異的にVMHのグルコース受容ニューロンを抑制したと結論できる。

稿を終るに臨み終始御懇篤な御指導、御校閲を賜った金大医学部生理学教室大村裕教授に深甚なる謝意を表します。また金大がん研究所分子免疫部右田俊介教授、金大医学部生理学教室大山浩助教授並びに小野武年先生の御指導、御助言に深く謝意を表します。また教室の諸姉姉の御親切な御援助に対し御礼申し上げます。本研究の一部は文部省科学研究費 (70009, 92455, 90958, 99054, 96050, 670009, 748055, 7004), NIH (NB07201-03) およびDA-CRD-AFE-S92-544-72-G177の援助によっています。厚く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Hetherington, A. W. & Ronson, S. W. : Anat. Rec., 78, 149 (1940).
- 2) Delgado, J. M. R. & Anand, B. K. : Am. J. Physiol., 172, 162 (1953).
- 3) Oomura, Y., Ooyama, H., Yamamoto, T., Naka, F., Kobayashi, N. & Ono, T. : Progress in Brain Research, 27, 1 (1967).
- 4) Brobeck, J. R. : Physiol. Rev., 26, 541 (1946).
- 5) Anand, B. K. & Brobeck, J. R. : Yale J. Biol. and Med., 24, 123 (1951).
- 6) Morgane, P. J. : J. Comp. Neur., 17, 1 (1961a).
- 7) Morgane, P. J. : Am. J. Physiol., 201, 420 (1961b).
- 8) Anand, B. K. & Dua, S. : Indian J. Med. Research, 43, 123 (1955).
- 9) 大村 裕 : 神研の進歩, 10, 84 (1966).
- 10) Mayer, J. & Marshall, N. B. : Nature, 178, 1399 (1956).
- 11) Oomura, Y., Kimura, K., Ooyama, H., Maeno, T., Iki, M. & Kuniyoshi, M. : Science, 143, 484 (1964).
- 12) Anand, B. K., Chhina, G. S., Sharma, K. N., Dua, S. & Singh, B. : Am. J. Physiol., 207, 1146 (1964).
- 13) Oomura, Y., Ono, T., Ooyama, H. & Wayner, M. J. : Nature, 222, 282 (1969).
- 14) Mihailović, Lj. & Janković, B. D. : Nature, 192, 665 (1961).
- 15) Mihailović, Lj. & Čupić, D. : Brain Res., 32, 97 (1971).
- 16) Cajal, S. R. Y. : Histologie du Système Nervex de L'Homme et des Vertébrés, Tom. II, p.474, Madrid, Instituto Ramon Y. Cajal, 1955.
- 17) Grünthal, E. : Z. Ges. Neurol. Psychiat., 120, 157 (1929).
- 18) Oomura, Y., Ono, T., Sugimori, M., Nakamura, T., Gawronski, D. & Ooyama, H. : XXV Int. Congr. Physiol. Sci., 9, 432 (1971).
- 19) König, J. F. R. & Klippel, R. A. : The rat brain, Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1963.
- 20) 大村 裕・大山 浩・小野武年・神本正憲・米田邦雄 : 医学のあゆみ, 70, 314 (1969).
- 21) Oomura, Y., Ono, T. & Ooyama, H. : Nature, 228, 1108 (1970).
- 22) 小野武年 : 十全医会誌, 77, 447 (1969).
- 23) 大山 浩・大村 裕・米田邦雄 : 日生理誌, 32, 40 (1970).
- 24) Krnjević, K. & Whittaker, V. P. : J. Physiol., 179, 298 (1965).
- 25) Curtis, D. R. & Koizumi, K. : J. Neuro-

- physiol., 24, 80 (1961).
- 26) Oomura, Y., Ooyama, H., Yamamoto, T., Ono, T. & Kobayashi, N. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 157, 642 (1969).
- 27) 大村 裕・小野武年・杉森睦之・中村 勉 : 日生理誌, 33, 193 (1971).
- 28) Oomura, Y. : Advances in Biophysics, vol. 5, ed. by M. Kotani, Tokyo Univ. Press (1973).
- 29) 大村 裕 : 新生理上巻 (問田, 内菌編), 第3版, 327頁, 東京, 医学書院, 1971.
- 30) 大村 裕 : 第26回日本医学会シンポジウム, 1973.
- 31) Reuben, J. P., Girardier, L. & Grundfest, H. : J. gen. Physiol., 17, 1141 (1964).
- 32) Wald, F., Mazzuchelli, A., Lapetina, E. G. & Robertis, De E. : Exp. Neurol., 21, 336 (1968).
- 33) Robertis, De E., Lapetina, E. G. & Wald, F. : Exp. Neurol., 21, 322 (1968).
- 34) Mihailović, Lj., Janković, B. D., Beleslin, B., MiLōsević, D. & Čupić, D. : Nature, 206, 904 (1965).
- 35) Huneus, F. C. & Fernandez, H. L. : J. gen. Physiol., 50, 2407 (1967).
- 36) Oomura, Y., Fukuda, R. & Sugimori, M. : Fourth International Meeting of the International Society for Neurochemistry, 1973.
- 37) Bornstein, M. B. & Crain, S. M. : Science, 148, 1242 (1965).
- 38) Nicholls, J. G. & Kuffler, S. W. : J. Neurophysiol., 27, 645 (1964).
- 39) Oomura, Y., Sugimori, M., Nakamura, T., Gawronski, D. & Fukuda, R. : I.U.P.S.-Regional Meeting, 3., 163 (1972).
- 40) 齊藤幸一郎 : 新生理下巻 (問田, 内菌編), 第2版, 161頁, 東京, 医学書院, 1965.
- 41) Nelson, P. G. & Frank, K. : J. Neurophysiol., 27, 913 (1964).

Abstract

The rat ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) contains neurons which respond specifically to blood glucose. These neurons receptive sites may have a particular membrane protein configuration for which a specific VMH antibody is expected to be produced in rabbit serum. Microapplication of this antibody would inhibit the activity of VMH neurons through a specific antigen-antibody reaction. After production and identification of this antibody in rabbit serum, antibody was applied electrosmotically to rat VMH neurons through multi-barreled electrodes. With an application of fresh antibody, unit discharges briefly increased in rate, then suddenly ceased irreversibly in 24% of the 25 VMH neurons. When antibody was not fresh, activity decreased or ceased for a considerable period but eventually returned to the original level in 40% of all the VMH neurons tested. Two-thirds of the VMH neurons which responded to glucose applications were inhibited in this manner ($p=0.0001$). Normal rabbit serum and antibody for rat caudate nucleus did not affect VMH neurons ($p<0.005$). 24% of the neurons which were in the lateral area in the hypothalamus (LH) were facilitated by anti-VMH, but none of them were inhibited by it. These results provided one more step toward clarifying the specific membrane characteristics of the chemoreceptive neuron.
