

Studies on the Mechanism of Action of Insecticides (VII). Activity of Neuron Soma as a Factor of Development of DDT Symptoms in the Cockroach. Teruo YAMASAKI and Toshio ISHII (Laboratory of Applied Entomology, Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Tokyo, Japan). Received Jan. 3, 1954 *Botyu-Kagaku* 19, 1. 1954 (with English résumé, 13)

1 殺虫剤の作用機構に関する研究(第7報)ゴキブリの DDT 中毒症状と神経機能
山崎輝男・石井敏夫(東京大学 農学部 害虫学研究室) 29. 1. 3 受理

殺虫剤の虫体内に於ける作用機構を解明するためには、先ず第一に種々な器官に対する影響を現象的に詳しく解析してその作用点を明かにしなければならない。而してこのような研究は薬剤の作用機構の生化学的乃至は物理化学的研究の基盤となるべきデータを提供するものである。DDT については現在迄にさまざまな見地から作用機構が調べられてきたが、データは錯雑して統一的理解を與えることは困難なので、新たな出発点に立つてその虫体内に於ける作用機構を現象的に解析してみたところ、その作用機構の大綱は神経特に neuron soma の反復興奮性の増大に帰せしめられ、既存の二、三の説をも統一包含することが出来た。

DDT 中毒症状の発現機構については現在迄に二、三の説明が試みられているとはいえその根拠となるデータは錯雑して、統一的理解を與えることは一見困難なように思われていた(山崎・石井, 1952c)。よつて筆者等は前報に於いて DDT の中毒症状を精細に分析し、且つ神経の機能的変化を中毒症状と関連づけて調べ、DDT 中毒ゴキブリの初期症状は痙攣ではなく挙動変調と運動失調であり、また DDT の一次的作用(primary action)は neuron soma の反復興奮性を増大させ、その結果シナプス伝達の様相を変化せしめるため、このような中毒症状を誘発させるものであることを示唆した(山崎・石井, 1953)。こゝにその実験的証明の一部を報告する。

昆虫類や甲殻類の中枢神経系が自発性衝撃を發していることは古くから知られており(Adrian, 1930, 1931; Prosser, 1934)、これに及ぼす種々のイオン、薬剤、温度或いは電気刺激の影響も広く研究されて来た(Dresden, 1949; 篠原, 1950a, b; Koketsu, 1951; 熊谷, 1950; Lowenstein, 1942; Prosser, 1935, 1936, 1940, 1941, 1943; Prosser & Buehl, 1939; Roeder, 1941, 1948a; Roeder & Roeder, 1939; Roeder & Weiant, 1946, 1948; 末永・熊谷, 1951; 山崎・石井, 1951, 1952b)。中枢神経系が求心性刺激を断たれても自発的に衝撃を發しており、且つ connective だけではこれが見られないことから、この自発性衝撃は神経節内の neuron soma より發していることがわかる。また一方求心性刺激によつてもこの衝撃発生様式は変化することが報告されている(熊谷, 1950; 末永・熊谷,

1951, 1952)。故に中枢神経系の衝撃發生の activity は intrinsic な要因と、求心性刺激の2つに支配されている(Roeder, 1953)。Intrinsic な条件を支配するものは換言すれば central excitatory state であるから、自発性衝撃に及ぼす薬剤の影響を調べることは、その神経特に neuron soma に対する薬剤の作用機構を究明する有力な手段であると考えられる。

DDT はゴキブリ中枢神経系の自発性衝撃に著しい影響を及ぼさないとされていた(Dresden, 1949; Roeder & Weiant, 1946, 1948)。しかし追試した結果では体外に摘出したゴキブリ腹部神経索を DDT 懸濁 Ringer 氏液で処理すると自発性衝撃頻度がかなり高まり、且つ衝撃群をも發することが明かになった(山崎・石井, 1952b)。故にこの影響を更に究明して中毒症状との関連を明かにするために、DDT 中毒ゴキブリの各症状段階の個体について自発性衝撃の發生消長を調べた。

また DDT はゴキブリ脚の感覚細胞にも影響を及ぼすことが知られている。即ち DDT をゴキブリの脚に注射するとその錐状感覚器から連続した衝撃(train of impulses)が發し、しかもこの影響は極めて低濃度(0.01 p.p.m.)でも現われるので、DDT は先ず感覚細胞を侵して train を發せしめ、これが反射弓を経て運動 neuron を刺激するため異常な興奮や痙攣が誘発されるのであると結論されている(Roeder,

本研究は文部省科学研究費及び農林省応用研究費の一部によつてなされた事を附記して謝意を表する。

1953; Roeder & Weiant, 1946, 1948, 1951)。しかし一方、このように DDT は脚の感覚細胞から train を発せしめず、専らシナプス伝達の疎通 (facilitation) を起させ中毒症状を誘発させるとも言われている (Dresden, 1948, 1949)。よつて筆者等は追試を行い、かゝる混乱したデータを統一すると共に、中毒症状と関連づけてこれらの現象を調べ、自発性衝撃に及ぼす DDT の影響及び症状発現機構を考察した。

本研究を行うに当り終始御懇切な御指導と御援助を賜つた東大農学部有賀久雄教授並びに同医学部若林勲教授に深謝の意を表すると共に、供試殺虫剤を提供された農林省農業検査所佐藤六郎技官に厚く御礼申し上げます。

実験材料並びに方法

供試昆虫は大部分 ワモンゴキブリ *Periplaneta americana* L. 成虫で、一部老熟仔虫を用いたが、これ等は定温器内で 20°C で飼育したものである。

ゴキブリの尾毛から発する尾毛神経は感覚神経繊維で、第6腹部神経節内で数本の巨大神経繊維とシナプス接合をしている。この巨大神経繊維は胸まで neuron を交代せずに直走し、後胸、中胸或いは前胸神経節内で脚の運動 neuron とシナプス接合しているが、一部は更に頭部の方に走っている (Roeder, 1948b)。これ等巨大繊維は神経索内の他の繊維に較べて極めて太いので活動電圧が大きく、神経索に誘導電極を引つけて活動電圧を誘導すれば、巨大繊維からのものは他の細い繊維のものと明確に識別される。故に尾毛を切断した標本の神経索から活動電圧を誘導すれば、巨大神経繊維の自発性衝撃のみが調べられる。

先ず虫体を解剖皿上に腹部を上にしてピンで固定し、脚は伸ばした状態で薄いゴム板片で止め、腹部を切開して神経索のみを残して他の内臓を除去し、且つ尾毛をその基端から切断した。この時腹部尾端の第6腹部神経節の附近のみは内臓を除去せず、出来るだけ第6腹部神経節を傷つけないようにした。神経活動電圧は第3～第4腹部神経節間又は第4～第5腹部神経節間の connective より細い1対の銀線電極によつて誘導し、抵抗容量結合の増巾器で増巾した後、陰極線オツシログラフを用いて観察した。また記録撮影には陰極線オツシログラフ或いは横河電機製の電磁型オツシログラフ (H 型振動子) を用いた。このほか、長時間に亘る観測には時折スピーカーを用いて活動電圧を音に変え、聴音観測を行つた。解剖直後は解剖による種種な刺激のために一時自発興奮性が高まっているので、解剖後少なくとも数分以上経過してから撮影を始めた。

観察時には巨大繊維の spike 電圧を大約大、中、小の3段階に分け、またそれぞれの発生頻度はほぼ4段階に分けて記載したが、この方法では大体の傾向しか掴めないもので、一部は撮影して定量的に頻度を調べた。それには撮影したオツシログラムから spike 電圧が一定度以上のもの (大体観察時の大及び中の spike 電圧に相当) のみを取り、その頻度と spike 間隔を測定したが、通常1個体から十数秒間のオツシログラムを取つて検討した。以後すべて断わりない限り上述の巨大繊維の衝撃についてのみ述べることにする。

而してこのような観察を DDT 無処理の正常なゴキブリと DDT 中毒のゴキブリについて行つた。DDT 処理は純粹な *p, p'*-DDT の acetone 溶液を中胸、後胸及び腹部の背板に一定量塗布して行い、種

Fig. 1. Spontaneous activity of the giant nerve fibres in the central nerve cord (American cockroach) recorded with external electrodes. Roaches were dissected at different stages of the poisoning symptoms after topical application of DDT. Amplifications are the same in all records. Upper and lower records in each set are the continuous one. Time marker, 50 c. p. s.

A: No treatment or control, 16°C, frequency of discharges in the giant fibres is very low.

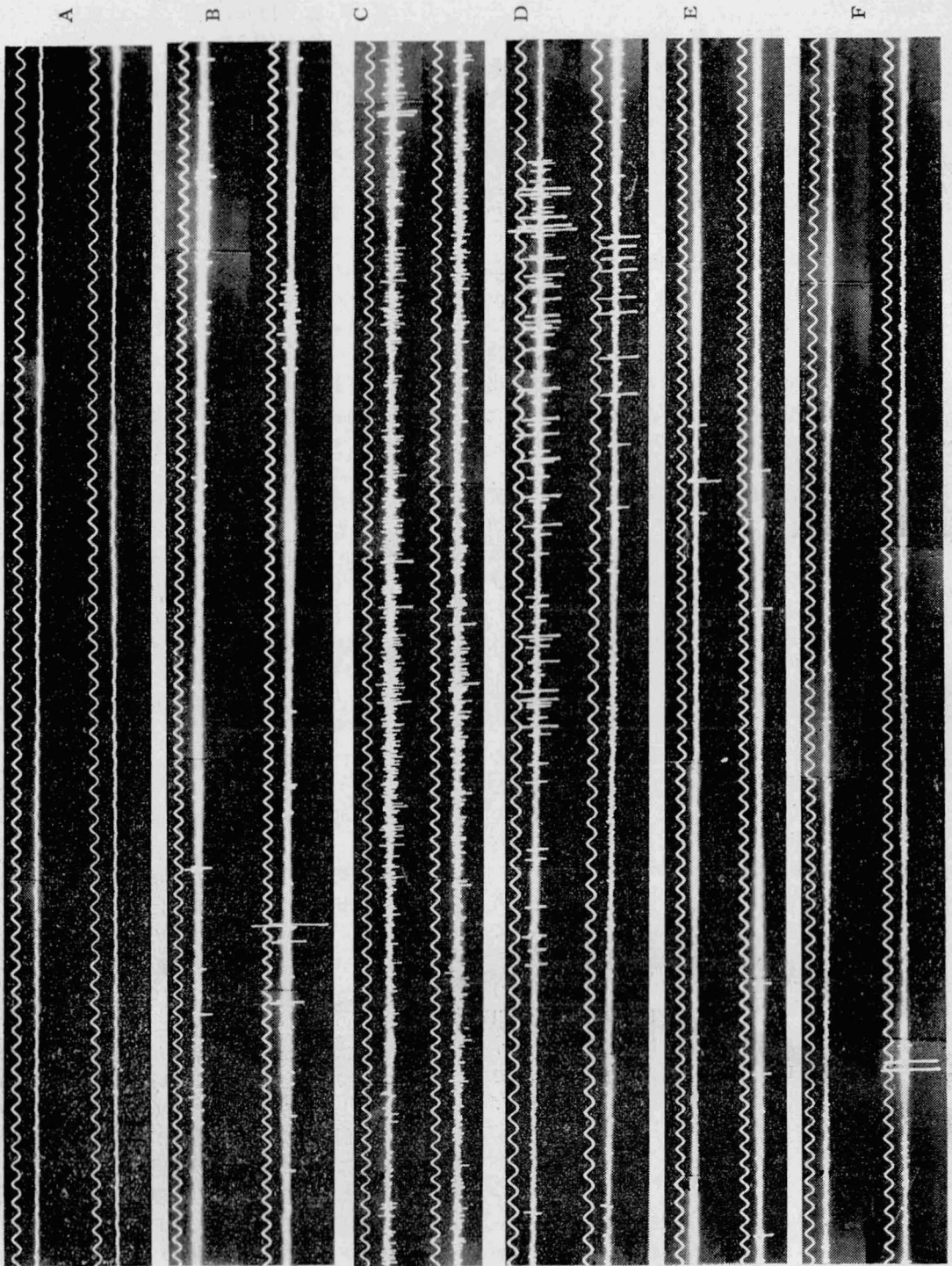
B: Control, 30°C, frequency is very low, in particular in the large giant fibres.

C: Locomotor instability and ataxia, 15°C, frequency of discharges in the giant fibres increases. Note the periodic discharges appeared in the groups of giant fibre spikes.

D: Beginning of the recovery from locomotor instability and ataxia upon transfer to a high temperature (30°C), though the recovery is not yet complete. Frequency approaches to the normal or untreated level, while the high spontaneous activity in the small giant fibres is left.

E: Convulsion, 16°C, frequency decreases.

F: Convulsion, 16°C. spontaneous activity so decreases that no giant fibre discharges are observed.



種の中毒症状段階に於ける個体を解剖して実験に供した。尙中毒症状の段階は前報(山崎・石井, 1953)の分類に従った。

ゴキブリ後脚の神経のうち, nerve No. 5 (Pringle, 1939) は後胸神経節から発して後脚に走る運動神経繊維と後脚の鑑状感覚器や剛毛から来る感覚神経繊維を含んでいる (Pringle, 1939; Roeder & Weiant, 1948)。故に脚の感覚 neuron の興奮は, nerve No. 5 から神経活動電圧を誘導すれば調べる事が出来る。

先ず脚に DDT を注射して感覚細胞からの train 発生の有無を調べるには, ゴキブリの頭部, 前脚, 中脚及び片側の後脚を切り落して腹面を上にして解剖皿上にピンで固定し, 残された片側の後脚は脚全体がやや伸長した形になるようにして脛節を薄いゴム板片で解剖皿に止めた。次に脛節末端部で脚を切断し, 又後胸神経節附近の表皮を切開して nerve No. 5 を露出, 更にその神経の神経節に入る直前の部分をピンセットでつぶすと共に後胸神経節から出る同側の他の神経をすべて切断するか, 或いは後胸神経節全体をつぶし, nerve No. 5 に細い1対の銀線電極を引っかけて活動電圧を誘導した。而して純粋な p, p' -DDT の M/20 ethanol 溶液を Ringer 氏液に注入して所要濃度の懸濁液としたものを, 1/5 注射針を附した 0.5 cc ツベルクリン用注射筒を用いて脛節切断面より注射したが, この場合基節基端の表皮切開部から Ringer 氏液が流れ出る迄充分に注入した。

また中毒症状と関連づけてこの train を調べるには, 既に述べた topical application の方法によつて中毒させ, 各症状段階にある個体を供試した。この場合には頭部や脚を全く切断せずに解剖皿上に固定して同様な方法で神経活動電圧を誘導した。活動電圧の増巾, 観察及び撮影は中枢神経系の自発性衝撃の観察の場合と全く同様に行つた。

何れの実験に於いても, 室温と異なる温度で活動電圧を観察する時には, 小型定温箱に供試個体を入れて行つた。

尚用いた Ringer 氏液は前報(山崎・石井, 1952c)と殆んど同じで, 1l 中に NaCl 153.9mM, KCl 2.6mM, CaCl_2 1.8mM, M/15 Na_2HPO_4 42.5 cc, 及び M/15 KH_2PO_4 7.5 cc を含んで pH は 7.2 であり, 結局陽イオンの組成としては Na^+ 159.6mM, K^+ 3.1mM, Ca^{++} 1.8mM を含むことになる。

実験結果

I. 中枢神経系の自発性衝撃

薬剤無処理の正常個体に於ける観察: 神経系中の細い繊維の自発性衝撃頻度は高いが, 巨大繊維のものは極めて低い (Fig. 1, A & B)。低温 (17°C) 及び

高温 (29°C) に於ける衝撃頻度は Table 1 に示す通りである。個体差はかなり著しく, 低温に於いて平均 1.37/秒, 高温で平均 0.74/秒であつて低温の方がやや頻度が高い傾向が見られる。

DDT 中毒個体に於ける観察 (1) 低温の場合: 結果は Table 1 及び Fig. 1, C に示す通りで, 僅かな挙動変調を呈しているだけで未だ運動失調に陥らない個体に於いても, 既に巨大繊維の自発性衝撃頻度はかなり高くなつている (Table 1, Nos. 10 & 11)。更に症状が進行して挙動変調及び運動失調に陥つたものでもやはり衝撃頻度は高く (Table 1, Nos. 12~25), 僅かな挙動変調のみを示している個体のものも含めての平均は 8.60/秒であつたが, 頻度にはかなりの個体差が見られた。Table 1 には上段から下段へかけて症状の進行順序に従つて記載したが, 勿論この配列もごく大体的なものである。これによると, 症状初期の方が衝撃頻度の増加が著しい傾向にある。また特に注目すべきは, 低温に於いては巨大繊維の自発性衝撃は週期的に群をなして現われることである (Fig. 1, C)。その週期は正確には測定し難いが, 短かいものは1秒位より数秒以上に亘つており, また1つの衝撃群中の spike 頻度もさまざまである。巨大繊維の興奮のこのような週期性は何れの個体についても相当顕著で, 後述する高温の場合とは明かに区別される。Spike 間隔を対数目盛によつて級別し, 出現頻度の histogram を画くと Fig. 2 の如くなる。Spike 間隔の小さい方に大きな山が現われているが, spike 間隔の大きなものも幾らか存在し, その間に谷が出来ていることは, 興奮が週期的に衝撃群となつて現われることを示している。

発症期に入つた個体では自発性衝撃頻度はかなり著しく減少している (Table 1, Fig. 1, E & F)。

(2) 高温の場合: DDT はゴキブリに対しては低温の方が有効であつて薬量を適当に選べば中毒症状は温度に関して可逆的であるので (Vinson & Kearns, 1952; 山崎・石井, 1953), 低温に於いて挙動変調及び運動失調にあつた個体を高温 (29°C) に移して症状が消失したものについて観察を試みた。巨大繊維の自発性衝撃頻度は無処理の正常個体よりは高いが, しかし低温に於いて中毒症状を現わしていた時に比しかなり著しく減少していることがわかる (Table 1)。この場合も頻度の個体差はかなり大きい, 平均 2.98/秒であつた。更に低温に於いて症状を現わしていた場合と異なる点は, 衝撃が週期的に現われず, 全く at random に現われることである (Fig. 1, D)。故に低温の場合と同様に spike 間隔の histogram を画くと Fig. 2 に示す如く, spike 間隔の小さい方に山が現われることはなく, 全体的に見て平坦で, むしろ

Table 1. Spontaneous activity of the giant fibres in the central nerve cord in the normal and DDT poisoned American cockroach at low and high temperatures.

No.	Temperature (°C)	Stage of symptom	Symptoms					Frequencies of the giant fibre spikes				
			Locomotor instability	Extension of tibia	Ataxia	Knock down	Convulsion	Approximate frequencies under observations			Frequencies under oscillograms (per second)	Averages (per second)
								Large spike	Median spike	Small spike		
1	17	Control (Low temp.)						—	±	±	1.7	1.37
2	17							—	±	±	0.6	
3	17							—	±	—	2.2	
4	17							—	±	±	1.0	
5	29	Control (High temp.)						—	—	±	0.6	0.74
6	29							—	±	+	0.2	
7	29							—	±	+	1.1	
8	29							—	±	±	1.0	
9	29							—	±	+	0.8	
10	17	Slight locomotor instability	±	—	—	—	—	±	+	+	12.1	29.8
11	16.5		±	—	—	—	—	+	+	+	29.8	
12	16.5	Locomotor instability and ataxia	+	±	±	—	—	±	+	+	9.2	8.60
13	16.5		+	+	+	—	—	±	+	±	13.3	
14	16.5		+	+	+	—	—	±	+	±	11.1	
15	17		+	+	+	—	—	±	+	+	4.4	
16	17.5		+	+	+	—	—	±	+	±	4.1	
17	15.5		+	±	±	—	—	—	±	±	0.7	
18	15		+	+	+	—	—	—	+	+	6.7	
19	16.5		+	+	+	—	—	+	+	+	3.8	
20	15		+	+	+	—	—	±	+	+	5.5	
21	17		+	+	±	—	—	±	+	±	15.0	
22	15		+	+	±	—	—	—	±	+	6.0	
23	16.5		+	+	±	—	—	+	+	+	10.8	
24	15		+	+	±	±	—	±	+	+	0.6	
25	15		+	+	±	±	—	±	+	+	4.5	
26	17	Convulsion				+	±	+	+	+	5.8	5.8
27	14					+	+	—	—	—		
28	14					+	+	±	±	±		
29	14					+	+	—	—	—		
30	14					+	+	—	—	—		
31	14					+	+	—	—	±		
32	14					+	+	±	±	±		
33	14					+	+	—	—	—		
34	14					+	+	—	—	—		
35	29	Recovered upon changing the temperature						—	+	±		2.98
36	29							—	+	±		
37	29							—	+	±		
38	29							—	±	+		
39	29							—	—	—		
40	29							—	+	+		
41	29							—	+	±		
42	29							—	+	+		
43	29							—	±	+		
44	29							—	+	±		
45	29							—	±	+		
46	29							—	±	+	3.0	
47	29							—	+	+	2.6	
48	29							±	+	±	3.8	
49	29							±	±	+	0.5	
50	29							±	±	+	3.8	
51	29							±	+	±	3.5	
52	29							—	±	+	3.7	

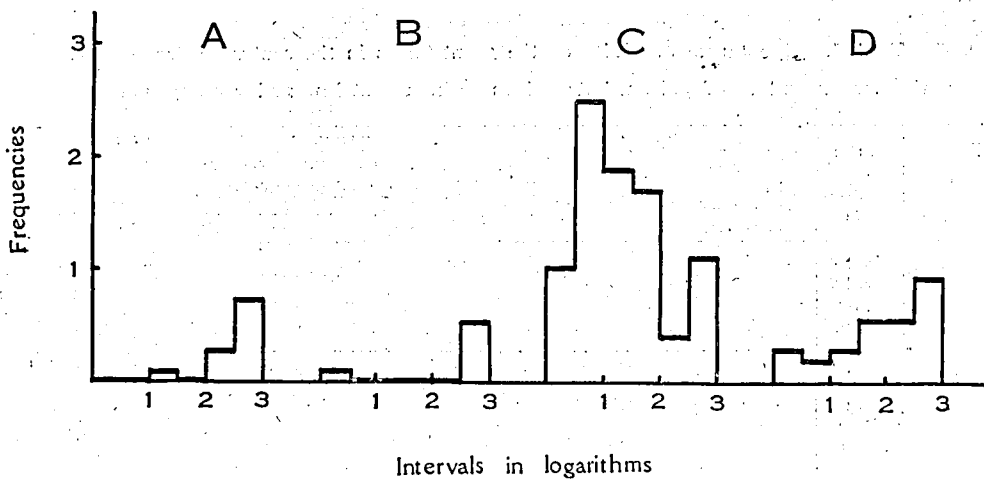


Fig. 2. Histograms of the spike intervals : spontaneous impulses of the giant nerve fibres in the central nerve cord in the normal and DDT poisoned American cockroach. Spike intervals (msec.) were classified into six groups in logarithmic scale : abscissa indicates the classified spike intervals, ordinate the frequencies (per. sec.) of the classified intervals.

A : No DDT treatment or control at a low temperature (17°C).

B : Control at a high temperature (29°C).

C : DDT poisoned roach, with symptoms of locomotor instability and ataxia, at a low temperature (17°C).

D : DDT poisoned roach, recovered from the locomotor instability and ataxia upon transfer to a high temperature (29°C).

間隔の大きい方に小さな山が現われている。

II. 脚の感覚細胞からの train の誘発

薬剤無処理の正常個体 : 外部から刺激が加わらなくとも感覚 neuron の興奮がみられ、それが at random の spike となつて現われている (Fig. 3, A & B)。転節や剛毛に触れるか或いは脚を動かしてやると高頻度の一過性の衝撃群が見られる。

DDT を脚に注射した場合 : DDT ethanol 懸濁液と同濃度の ethanol のみを含んだ Ringer 氏液を脚に注射しても train は現われないが、DDT 懸濁液 ($10^{-8}M \sim 10^{-6}M$) を注射すると間もなく著しい train が現われる。この train 内の spike は 100~500/秒の頻度で始まり、spike 間隔が徐々に延長して約 10~300 ミリ秒持続した後突然に放電は終る。これを後述する持続時間の長い train に対比させて short train と名付ける (Fig. 3, D~K)。而して 1 つの train 内の各 spike 電圧から見て、これは単一 neuron が反復興奮した結果であると考えられる。また種々な spike 電圧の train がそれぞれ一定頻度で現われるが、それ等の train 出現頻度の合計は多い時は 150/

分以上にも達する。転節より上位で神経を切断すればこの train の発生は止むから、これが感覚細胞に発していることは明かである。

DDT 中毒個体の場合 : topical application によつて中毒させた個体でも train は現われている。先ず低温 (15°~18°C) の場合は、DDT 処理後まだ著しい症状を示さないものでも上述の train が既に現われており、症状が現われ始めて挙動変調及び運動失調を呈しているものでも大部分 train は見られる (Table 2)。しかしこの場合には既に述べた比較的高頻度で持続時間の短い train 即ち short train (最初の頻度 100~500/秒、持続 10~300 ミリ秒) のほかに、比較的低頻度 (最初の頻度 100/秒 前後) で持続時間の長い (1 秒前後) train 即ち long train も現われる (Fig. 3, C1 & C2)。これ等の中間に属するような train は比較的少ないので、Braun 管の螢光面上にも、また音にしても両者は容易に識別される。Spike 電圧を大、中及び小と分けると、long train は大部分中位の spike 電圧のものであるが、short train は何れの大きさのものも含まれていた。Train 出現の頻度は個体によりかなり異なり、short train

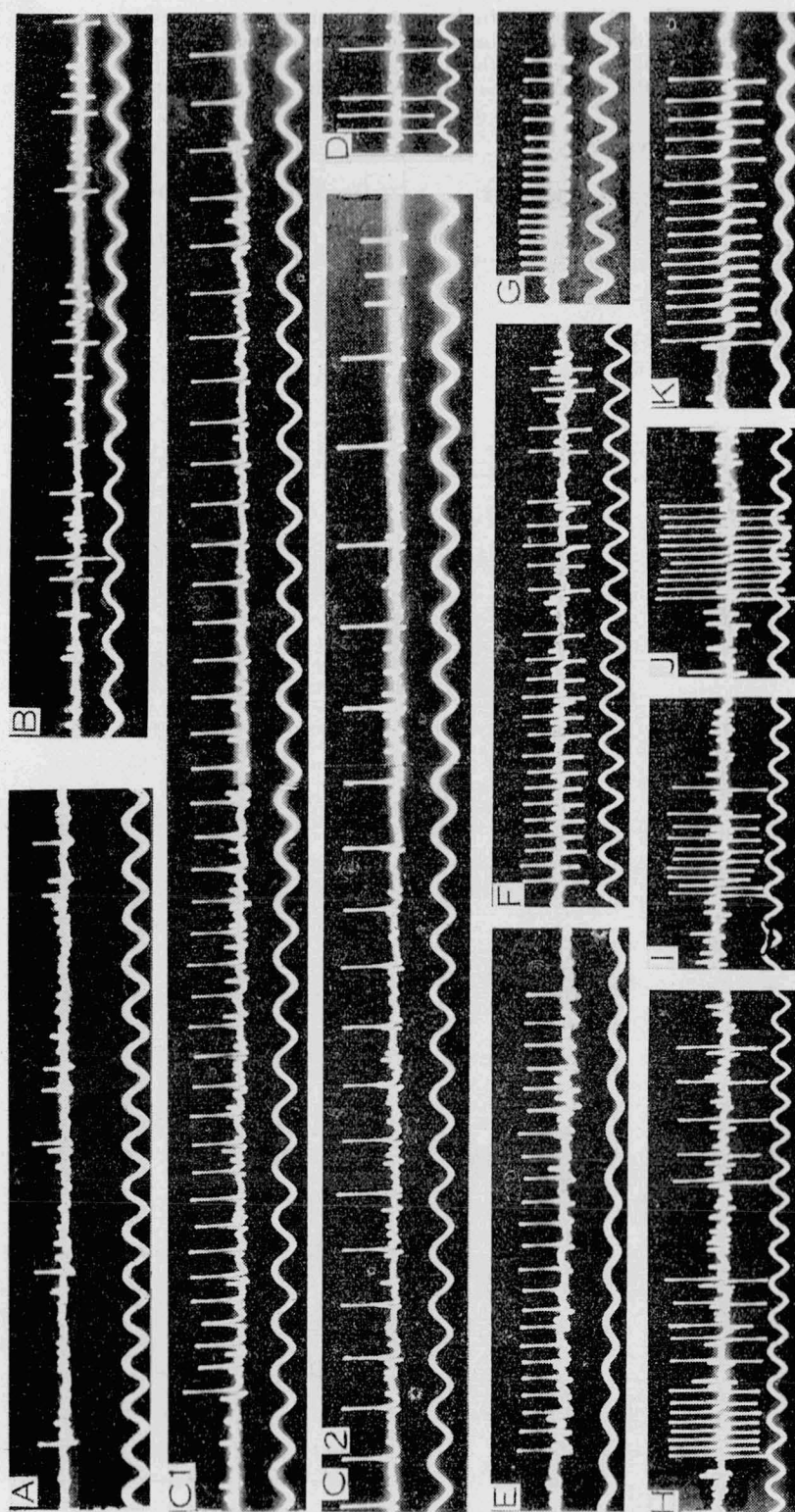


Fig. 3. Trains of impulses in the sensory neurons of the metaleg in the American cockroach induced by DDT application, recorded at the level of the crural nerve (nerve No. 5) just before entering the metathoracic ganglion, which was crushed in order to eliminate the efferent discharges. 15°C, time marker, 50 c. p. s.

A & B: No treatment or control, no train but spontaneous discharges are observable, relative magnitude of amplification is 1.

C1: Long train induced in the poisoning symptoms of locomotor instability and ataxia by the topical application of DDT, amplification is 0.6.

C2: Continued from C1.

D, E, F, G, H, I, J & K: Various types of short trains with high or low spike frequencies, or fast or slow adaptation, induced by the injection of DDT through the leg or by the topical application of DDT. Relative magnitude of amplification is 1.5 except in H in which it is 1.

Table 2. Appearance of trains of impulses in the sensory neurons of the metaleg in the DDT poisoned American cockroach at the level of the crural nerve (No. 5) after it was crushed at the entering in the metathoracic ganglion, and the appearance of trains after severing the crural nerve in the femur. Experiments at low temperature.

No. of roaches	Right (R) or left (L) legs	Temperature (°C)	Stage of symptom	Symptoms					Appearance of trains.			
				Locomotor instability	Extension of tibia	Ataxia	Knock down	Convulsion	Intact leg		After severing the crural nerve in the femur.	
									Short train	Long train	Short train	Long train
1	R	17	Latent period or slight locomotor instability	-	-	-	-	-	+	-	+	-
2	L	18		-	±	-	-	-	+	-	+	+
3	R	18		-	±	-	-	-	+	-	+	-
4	L	17		±	-	-	-	-	+	-	+	-
5	R	17	Locomotor instability and ataxia	±		±	-	-	+	+	+	-
6	L	16.5		+	±	±	-	-	+	+	+	-
7	R	17		+	±	±	-	-	+	+	+	-
8	L	17		+	+	±	-	-	+	+	+	-
9	R	17		+	+	±	-	-	+	+	+	+
10	L	17		+		±	-	-	+	+	+	+
11	R	17		+		±	-	-	+	+	+	-
12	L	16		+	+	+	-	-	+	+	+	+
13	R	16		+	+	+	-	-	+	+	+	-
14	L	16		+		+	-	-	+	+	+	+
15	R	17.5		+		+	-	-	+	+	+	-
16	L	16		+	+	±	-	-	+	-	+	-
17	R	18		+	+	+	-	-	+	+	-	+
18	L	17.5		+		+	-	-	+	-	+	-
19	R	17		+	+	+	-	-	+	+		
20	L	17		+	+	+	-	-	+	+		
21	R	15		+	+	+	-	-	+	+	+	+
22	R	16	Convulsion				+	+	+	+	+	+
23	L	16					+	+	+	+	-	-
24	R						+	+	-	+		
25	L						+	+	-	+		
26	R	16					+	+	-	+	+	+
27	L	17					+	+	-	+	-	-
28	R	17					+	+	-	+	-	-
29	L	17					+	+	+	+	+	-

は多いものは150/分以上にも達するものがあるが long train は6~52/分であつた。Table 2 に示す通り、挙動変調及び運動失調期に於いては34例中25例に short train が現われ(74%)、long train は27例に見られた(79%)。但し脚1本を1例として取扱つた。而して short train も long train も現われていない例は1つもなかつた。Pringle (1938)によれば、ゴキブリ脚の鐘状感覚器は転節、腿節基端、脛節基端、及び跗節接縫部に分布しているが、その75%は転節に存在すると言われている。又 DDT を注射した脚を末梢部より順々に切断して行くと、at random の単一興奮は切断につれて次第に減少して行くに反し、train 発生頻度は転節が除去されるまではあまり減少しないが、転節が除去されると急に現われなくなることから、DDT による train は鐘状感覚器から発するもので、剛毛や毛の感覚器からは発しないと言われている (Roeder & Weiant, 1948)。よつて、脚を切断して train 発生の変化を調べてみた。

腿節中央部で表皮の一部を残して脚を切断すると(表皮の一部は残されているから切断後の脚全体の姿勢は殆んど変らない)、train 発生頻度が変化した (Table 2)。Short train は切断前よりむしろ出現頻度が増加する傾向が見られた。即ち切断前に現われていた short train が切断によつて全く消失した例はなかつたが、切断前に見られず、切断後現われたことが6例中5例まであり (Table 2, Nos. 6R, 10R, 10L, 18R & 21R)、また切断前に現われていた short train が切断によつて出現頻度が著しく増加することもある例が見られたことを併せて考えると、この手術が何等かの原因で転節鐘状感覚器よりの short train 発生を助長したと考えられるが、その機構については現在のところ不明である。long train は多くは減少するか或いは全く現われなくなり、後者は21例中10例を占めていたが (Table 2, Nos. 5R, 6R, 7R, 7L, 11R, 11L, 13R, 15R, 15L & 20L)、short train と異なつて、切断前に見られずに切断後に現われたことは挙動変調及び運動失調期の場合5例中1例もなかつた(殆んどまだ症状が現われていない個体については、5例中1例あつた、Table 2, No. 2R)。

痙攣期に入ると train 出現頻度は著しく減少する (Table 2)。痙攣期初期のものではまだ short train, long train 共に現われているが (Table 2, Nos. 22L, 23R & 23L)、それより症状が進むと減少し、結局15例中 short train は4例 (Nos. 22L, 23R, 23L & 29R)、long train は7例 (Nos. 22L, 23R, 23L, 24L, 26R, 26L & 29R) 観察された。腿節切断の影響は挙動変調及び運動失調期と似ており、short train については切断前現われず、切断によつて出現

したもののが6例中2例見られた (Table 2, Nos. 26R & 26L)。

ゴキブリに対しては DDT は低温の方が有効であり、且つ薬量を適当に選べば中毒症状は温度に関して可逆的であるので (Vinson & Kearns, 1952; 山崎・石井, 1953)、低温に於いて挙動変調及び運動失調にあつた個体を高温 (20°C) に移して症状が消失したものについて観察を行つた。結果は Table 3 に示す如く、症状がなくなつても short train は大部分の個体に現われているが (18例中16例, 89%)、long train は18例中1例も見られなかつた。腿節切断の影響は低温の場合と同じで、short train は変化しないか或いは出現頻度が増加するに反し、切断によつて long train が現われることはなかつた。

高温に於いて中毒症状を現わし、激しい挙動変調や痙攣を示しているものでは train 出現頻度は極めて低かつた (Table 3)。

考 察

DDT がゴキブリ中枢神経索の自発性衝撃に著しい影響を与えることは、以上の結果より見ててもはや疑のない事実である。この実験結果は既に述べた如く他の研究者の知見と一致しないが、しかし Dresden (1949) や Roeder & Weiant (1946) は胸部中枢神経索を用いたということと、実験温度が重要な因子であるということらを考慮すれば、或程度うなづけるものであるが、この点については後報に於いて詳細に論ずることとする。

本実験の結果から明かにされた如く、巨大神経繊維の自発性興奮は中毒症状の経過と密接な関連を持ち、低温に於いて僅かに挙動変調を示し始めた時に既に著しい自発性衝撃頻度の増大があり、挙動変調及び運動失調を示している間衝撃頻度は高まつているが、痙攣期に入ると著しく減少して薬剤無処理の正常個体の水準よりも低くなる。更に低温に於いて挙動変調及び運動失調を来している個体を高温に移して症状が消失したものでは、この頻度は高温処理前よりかなり減少して正常な水準に近づいている。故に巨大神経繊維のこのような自発興奮性の増大は挙動変調及び運動失調と何等かの関連を持つており、痙攣には直接関係しないものと考えられる。

DDT を脚に注射した場合の感覚細胞からの train 発生は、全く Roeder 等の観察と一致している (Roeder & Weiant, 1946, 1948, 1951)、Dresden (1946, 1948) は注射法のみならず、DDT 中毒ゴキブリについても実験して否定的な結果を得ており、これは本実験の結果と一致しないが、その原因については現在のところ不明である。

Table 3. Appearance of trains of impulses in the sensory neurons of the metaleg in the DDT poisoned American cockroach at the level of the crural nerve (No. 5) after it was crushed at the entering in the metathoracic ganglion, and the appearance of trains after severing the crural nerve in the femur. Experiments at high temperature.

No. of roaches	Right (R) or left (L) legs	Temperature (°C)	Stage of symptom	Symptoms					Appearance of trains.			
				Locomotor instability	Extension of tibia	Ataxia	Knock down	Convulsion	Intact leg		After severing the crural nerve in the femur.	
									Short train	Long train	Short train	Long train
1	R	29	Recovered upon changing the temperature						+	-	+	-
2	R	29							+	-	+	-
3	R	29							+	-	-	-
4	R	29							+	-	+	-
5	R	29							+	-	+	-
6	R	29							+	-	+	-
7	R	29							+	-	+	-
8	R	29							+	-	+	-
9	R	29							+	-	+	-
10	R	29							+	-	+	-
11	R	29							+	-	+	-
12	R	29							+	-	+	-
13	R	29	Locomotor instability and ataxia or convulsion	+		+	-		+	-	+	-
14	R	29		+		+	-		+	-	+	-
15	R	29					+	+	-	-	-	-
16	R	29					+	+	-	-	+	-

低温に於いて挙動変調及び運動失調を現わしている個体には short train が見られ、痙攣期に入ると殆んど消失することは、short train が挙動変調及び運動失調と関連があるように見えるが、しかしこのような個体を高温にさらして症状を消失させても short train は消えないから、これのみが挙動変調及び運動失調の原因とは考えられない。Short train はたゞ症状潜伏期乃至は中毒初期にのみ現われるから、DDT の感覚細胞への一次的作用の表現型と言えよう。これに反し long train 出現は挙動変調及び運動失調発現と一致するから、これらの症状発現と何等かの関連を持つているものと考えられる。しかし long train は痙攣期に入ると著しく減少することから、これもやはり DDT の一次的作用によるものと思われる。

DDT によるこのような train の誘発機構について Roeder & Weiant (1948) は、DDT 注射前に感覚細胞が単一興奮を起していたものが DDT によつて反復的に興奮して train となつたと考えているが、本実験に於ける観察も少なくとも short train についてはこの考えに一致するものである。即ち脚に

DDT、特に稀薄な濃度に近いものを注射して観察していると、注射前に単一の spike であつたものが次第に 2~3 ミリ秒の間隔をおいた 2 つ或いは 3 つの連続した spike 群に変わり、更に 4 つ、5 つと spike が連続するようになって遂には典型的な short train になる。故に DDT によつて新しい細胞が刺激されて train を発せしめたというよりはむしろ単一興奮を起していたものが反復興奮に変えられたと見る方が妥当である。

Long train は脚に DDT を注射したのでは殆んど現われず、又中毒個体のしかも挙動変調及び運動失調期にあるものに於いてのみ著しい。更にある場合には中毒個体が一定低頻度で附節の屈折を続けていたが、それが long train の誘発と全く同期していた例も見られた。しかし一方同期していない例もあつた。このようなことから、long train は short train とは誘発機構がかなり異なるのではないかと思われ、特に附節の屈折と同期していた場合などは、附節の屈折時の筋肉の収縮が感覚器を刺激して train を間接的に発せしめたと見ることも出来る。既に述べたように、腿

節切断によつて消失する場合が約 50% を占めていたことも、long train が脈節よりも末梢の感覚器から発していることを示しており、上述の考えを裏付けている。この点については更に検討する必要がある。

前報(山崎・石井, 1953)に於いて論じた如く、神経や筋肉の反復興奮性と自発興奮性とは全く同一のものとして取扱うことは出来ないが、しかし一般に反復興奮性が高まってくると遂には自発性興奮を起すようになるから(佐藤, 1952)、少なくともある共通の要因に支配され、環境の影響(例えば薬剤、温度、或いは媒液の pH 等)を受けて同一方向に変化する現象と見ることが出来る。故に DDT によつて巨大神経繊維の自発性衝撃頻度が高まるのは、一つにはその neuron soma の反復興奮性が高まった結果であるとも見ることが出来、且つこの影響が中毒昆虫の初期症状と一致するので、DDT の神経に対する一次的作用は neuron soma の反復興奮性の増大であると考えられる。なお巨大神経繊維の neuron soma に直流通流刺激を与えて反復興奮性を調べたところ、DDT によつて刺激に対する反復興奮性が著しく高まることも実験的に証明されたが(山崎・石井, 未発表)、これも上述の考えに一致するものである。

脚の感覚 neuron の train 発生についても同様な考察が可能である。既に述べたようにこの train のみが DDT 中毒の初期症状たる挙動変調及び運動失調の原因ではないとは云え、何等かの関係を持つてゐることは明かであり、またそれに続く中毒症状たる痙攣とは直接関係がない。且つこの train は DDT 無処理の場合に単一興奮を示していた spike が、DDT によつて反復興奮に変つたものであると考えられるから、結局脚の感覚細胞に於いても、DDT は一次的作用としてその反復興奮性を増大させると結論することが出来る。

更に又ゴキブリ脚の運動 neuron の tonic discharge も DDT の影響を受ける。即ち正常な DDT 無処理個体の脚の運動神経に見られる tonic discharge、換言すれば一定頻度で発している spike の各々が、DDT 懸濁 Ringer 氏液を直接その神経節に適用することによつて数ミリ秒の間隔を持つた2つ又は3つの連続した spike に変ることが観察され(山崎・石井, 未発表)、これも単一興奮から反復興奮へと移行する途中の状態の現われではないかと推察される。

神経繊維についても DDT による反復興奮性の増大が認められている(Gordon & Welsh, 1948; Shanes, 1949a, b, 1951; Welsh & Gordon, 1947; 山崎・石井, 1952a)。

故にこのような DDT 中毒昆虫に於ける反復興奮性の増大は、感覚及び運動 neuron の種々な部分、

例えば neuron soma や axon に起つているのである。前述の如く、従来脚の感覚細胞からの train が DDT 中毒症状の原因であるといわれて来たが(Roeder, 1953; Roeder & Weiant, 1946, 1948, 1951)、以上の実験結果並びに考察から明かなように、これが要因の1つではあつてもこれのみが中毒初期症状の原因ではなく、むしろ神経系全体の機能変化の総合結果として、中毒初期症状が理解されるべきである。この点について更に立入つて考察を進めてみる。

シナプス伝達の電気説(Eccles, 1946, 1948)にせよ、また化学説(Rosenblueth, 1950; Nachmansohn, 1948)にせよ、neuron soma の興奮性の変化は当然シナプス伝達にも異常を来すであろうことは想像に難くない。ゴキブリには制止神経はないとされているから(Pringle, 1939)、反射の制止現象は恐らく中枢性のものと考えられるが、中枢性制止(central inhibition)を支配するものはシナプス伝達であるから、シナプス伝達の異常は必然的に反射経路の攪乱をもたらす。虫を挙動変調や運動失調に陥らしめる。DDT 中毒ゴキブリの初期症状の1つである脛節の伸長も、姿勢反射経路(Pringle, 1949)の攪乱と思われる。Dresden (1948, 1949)は DDT 中毒ゴキブリの脚神経の衝撃頻度の増加を中枢内のシナプス伝達の疏通によるものとしたが、これも上述の考えを裏書きするものである。

DDT 中毒によるゴキブリの痙攣が反射性のものであることは既に報告した(山崎・石井, 1953)。痙攣が DDT 中毒の初期症状でなく挙動変調に続く第2の段階であるということ(山崎・石井, 1953)、痙攣期に入つた個体では巨大神経繊維の自発性衝撃頻度も、また脚の感覚 neuron の train 発生頻度も著しく減少していることから、痙攣は DDT の神経に対する一次的作用の直接の表現でなく、むしろ DDT がその一次的作用として反復興奮性を増大させた後、何等かの毒作用によつて神経を deterioration に導いた結果であると考えられる。体外に摘出した神経も DDT 懸濁 Ringer 氏液で処理すると遂には伝導阻害に陥るもの(山崎・石井, 1952c)、このような deteriorative な影響の現われであろう。

更に麻痺期に入れば、回復する個体は全くないから、DDT による神経麻痺は、cocaine 等の麻酔剤の場合のような神経原形質膜のイオン透過性の減少等(Shanes, 1948)によるものでなく、神経の deterioration が更に進行した結果であると考えられる。それに続く死は麻痺の単なる延長と見られ、特に DDT が虫を殺すという直接作用が麻痺期の末期になつて働いたのではない。麻痺と死との限界は極めて曖昧で、どこを以つて死と判定するか判断に苦しむものである。

摘 要

DDT 中毒症状発現機構を究明するために、DDT 中毒のワモンゴキブリの神経機能の変化を調べたが、本報では中枢神経索内の巨大神経繊維の自発性衝撃頻度と、脚の感覚細胞からの train 発生について報告する。

DDT 無処理の正常個体では、中枢神経索内の巨大神経繊維の自発性衝撃頻度は極めて低く、低温 (17°C) で平均 1.37/秒、高温 (29°C) で 0.74/秒 であつた。

低温に於いて挙動交調及び運動失調期にある個体では、巨大繊維の自発性衝撃頻度はかなり増大し、平均 8.60/秒 に達し、この場合衝撃は群をなして週期的に現われた。痙攣期に入つた個体では、その衝撃頻度は著しく減少していた。

低温に於いて挙動交調及び運動失調に陥っている個体を高温に移して症状が消失したもので、その衝撃頻度は低温に於いて中毒症状を現わしていた時に較べかなり減少し、正常な水準に近づき、平均 2.98/秒 になつた。しかし、この場合には衝撃が群をなして週期的に現われることはなかつた。

このような DDT による自発性衝撃頻度の増加は、一つにはその neuron soma の反復興奮性が DDT によつて著しく増大したためと考えられ、痙攣よりもむしろ挙動交調及び運動失調と何等かの関係を持つている。

脚に DDT を注射すると感覚細胞より spike 頻度の高い (100~500/秒) 且つ持続時間の短かい (10~30 ミリ秒) train (short train) を発する。

DDT 中毒個体に見られる train には short train のほかに spike 頻度の低い (約 100/秒) 且つ持続時間の長い (約 1 秒) train (long train) がある。

Short train は低温 (15~18°C) に於いて症状潜伏期及び挙動交調、運動失調期にある個体に見られるが、痙攣期に入ると殆んど消失する。低温に於いて挙動交調及び運動失調期にあるものを高温 (29°C) に移して症状を消失させても short train は現われているが、高温に於いて痙攣期に入ればやはり消失する。

Long train は低温に於いて挙動交調及び運動失調期にある個体のみ見られ、これを高温に移して症状を消失させれば現われなくなる。また痙攣期にあつては低温、高温共に殆んど現われない。

腿節中央部で脚を切断すると short train 出現頻度は変らないか又は増加するが、long train は出現頻度が減少するか或いは全く消失する。

このような train は DDT 無処理の場合に単一興奮を示していた neuron soma が DDT によつて反復的に興奮したものと考えられる。Short train 及び long train は共に痙攣よりもむしろ挙動交調及び運動

失調と何等の関連を持つているが、train のみが症状を誘発する原因ではないと考える。

以上の結果を総合的に考察して、DDT の一次的作用は神経特に neuron soma の反復興奮性を増大させることであり、DDT 中毒の初期症状である挙動交調や運動失調は、従来言われて来た如き感覚神経細胞の反復興奮によるとか或いは中枢内のシナプス伝達の疏通によるというよりはむしろ、感覚及び運動 neuron を含めたすべての神経系の特に neuron soma の反復興奮性が増大した結果、シナプス伝達の様相に変化が起り、反射機能の攪乱が誘発されたためと考えられる。中毒症状の第2段階である痙攣は、DDT が一次的作用として神経の反復興奮性を増大させた後何等かの毒作用によつて神経を deterioration に導いた結果であり、又それに続く麻痺及び死は deterioration の単なる延長であると推論される。

引用文献

- (1) Adrian, E. D. : J. Physiol., **70**, 34~5 (1930)
- (2) —: ibid., **72**, 132~51 (1931)
- (3) Dresden, D. : Nature, **162**, 1003~1 (1948)
- (4) —: Physiological Investigations into the Action of DDT. Drukkerij en Uitgeverij G. W. van der Wiel & Co. Arnhem (1949)
- (5) Eccles, J. C. : Ann. New York Acad. Sci., **47**, 429~55 (1946)
- (6) —: Ann. Rev. Physiol., **10**, 93~116 (1948)
- (7) Gordon, H. T. & J. H. Welsh : J. Cell. Comp. Physiol., **31**, 395~419 (1948)
- (8) 頼綱教三 : 日本生理誌, **12**, 43 (1950a)
- (9) —: ibid., **12**, 175~8 (1950b)
- (10) Koketsu, K. : Kyushu Memoirs of Med. Sci., **2**, 113~22 (1951)
- (11) 熊谷恒雄 : 日本生理誌, **12**, 42~3 (1950)
- (12) Lowenstein, O. : Nature, **159**, 760~2 (1942)
- (13) Nachmansohn, D. : Bull. Johns Hopkins Hospital, **83**, 463~96 (1948)
- (14) Pringle, J. W. S. : J. Exp. Biol., **15**, 114~31 (1938)
- (15) —: ibid., **16**, 220~31 (1939)
- (16) —: ibid., **17**, 8~17 (1940)
- (17) Prosser, C. L. : J. Cell. Comp. Physiol., **4**, 185~209 (1934)
- (18) —: J. Gen. Physiol., **19**, 65~73 (1935)
- (19) —: Cold Spr. Hrb. Symp. Quant.

Biol., 4, 339~40(1936)

- (20) —: J. Cell. Comp. Physiol., 15, 55~66(1940)
- (21) —: Amer. J. Physiol., 133, 417(1941)
- (22) —: J. Cell. Comp. Physiol., 22, 131~45(1943)
- (23) Prosser, C. L. & C. C. Buehl: *ibid.*, 14, 287~97(1939)
- (24) Roeder, K. D.: J. Cell. Comp. Physiol., 18, 1~9(1941)
- (25) —: *ibid.*, 31, 327~38(1948a)
- (26) —: J. Exp. Zool., 168, 243~62(1948b)
- (27) —: Insect Physiology, John Wiley & Sons, Inc., New York, p. 423~62(1953)
- (28) Roeder, K. D. & S. Roeder: J. Cell. Comp. Physiol., 14, 1~12(1939)
- (29) Roeder, K. D. & E. A. Weiant: Science, 103, 304~6(1946)
- (30) —, —: J. Cell. Comp. Physiol., 32, 175~86(1948)
- (31) —, —: Ann. Ent. Soc. Amer., 44, 372~80(1951)
- (32) Rosenbluth, A.: The Transmission of Nerve Impulses at Neuroeffector Junctions and Peripheral Synapses, Chapman & Hall, Ltd., London(1959)
- (33) 佐藤昌康: 日本生理誌, 14, 252~3(1952)
- (34) Shanes, A. M.: Science, 107, 679~81(1948)
- (35) —: J. Gen. Physiol., 33, 57~73(1949a)
- (36) —: *ibid.*, 33, 75~102(1949b)
- (37) —: J. Cell. Comp. Physiol., 38, 17~40(1951)
- (38) 宋永一男, 熊谷恒雄: 日本生理誌, 13, 62(1951)
- (39) —, —: *ibid.*, 14, 303(1952)
- (40) Vinson, E. B. & C. W. Kearns: J. Econ. Ent., 45, 484~96(1952)
- (41) Welsh, J. H. & H. T. Gordon: J. Cell. Comp. Physiol., 30, 147~71(1947)
- (42) 山崎輝男, 石井敏夫: 蚕糸学会関東支部大会講演 (1951)
- (43) —, —: 応用昆虫, 7, 157~64(1952a)
- (44) —, —: 昭和27年度応動昆虫大会講演 No. 75(1952b)
- (45) —, —: 応用昆虫, 8, 111~8(1952c)
- (46) —, —: *ibid.*, 9, 87~96(1953)

Résumé

Nervous activity in the DDT poisoned American cockroach, *Periplaneta americana* L., has been studied electrophysiologically with amplifier and oscillograph for the purpose of accounting the mechanism of development of DDT symptoms. In this report, we are concerned in the spontaneous activity of the giant nerve fibres in the central nerve cord and appearance of train of impulses in the sensory neurons of the leg.

In the normal or untreated cockroach, the frequency of the spontaneous impulses in the giant nerve fibres is very low, with average frequencies of 1.37 impulse per second at low temperature (17°C) and 0.74 impulse per second at high temperature (29°C).

At low temperature, neuron somata of giant fibres in the DDT poisoned roach with symptoms of locomotor instability and ataxia are discharging impulses spontaneously at high frequency on an average of 8.60 impulses per second. As the excitations of several neuron somata are approximately synchronized, the impulses are discharged periodically causing the grouping of impulses.

As the poisoning was advanced in the convulsive period at low temperature, the frequency of spontaneous discharges in the giant fibres is decreased markedly.

In the roach recovered from the symptoms of locomotor instability and ataxia upon changing the temperature to 29°C, spontaneous activity of the giant fibres is so depressed that the frequency of discharge of impulses approaches the normal or untreated level, on the average 2.98 impulses per second. No synchronization of impulse discharge occurs in this condition.

Augmentation of repetitive excitability of neuron soma by DDT poisoning may be the most important factor for the increased spontaneous activity of neuron soma. This change of nervous activity is correlated with the locomotor instability and ataxia rather than convulsion.

Trains of impulses in the sensory neurons are induced by the injection of DDT alcoholic suspension through the leg in the cockroach. Each train starts at a frequency of 100 to 500

impulses per second, declines slightly in frequency and ends abruptly within 10 to 300 milliseconds. Such train as this may be called "short train".

In the DDT poisoned roach, an additional "long train" can be detected, which starts at a relatively low frequency of about 100 impulses per second, declines slightly in frequency, and, after lasting for about one second, ends abruptly.

Short trains are discharged in the sensory neurons of the poisoned roach at low temperature in the period of latent or locomotor instability and ataxia, but as the symptoms progress to those of the convulsive period they cannot be observed. In the roach recovered from locomotor instability and ataxia upon changing the temperature to 29°C sensory neurons are discharging short trains, while after the poisoning has advanced to the convulsive period at high temperature, the spontaneous sensory activity is the same as that of roach in the convulsive period at low temperature.

Long trains can be detected in the poisoned roach with symptoms of locomotor instability and ataxia at low temperature. In the recovered roach from these initial symptoms upon changing the temperature to 29°C, long trains are not produced. And only in few cases these trains are induced in the convulsive period both at low and high temperatures.

Activity of production of short trains may be increased or may not be changed upon severing the crural nerve at the level of femur in the DDT poisoned roach, while that of long trains may be decreased or lost by the same operation.

Under the influence of DDT, the sensory neurons which are discharging the single spike normally may be excited repetitively and discharge the train of impulses. While the appearance

of both short and long trains may be correlated with the locomotor instability and ataxia rather than the convulsion, this effect is not the sole factor for the development of DDT symptoms.

The foregoing experimental evidence clearly supports our hypothesis concerning the mechanism of development of DDT symptoms that have been published already in our previous paper, and the following conclusion can be drawn from it.

DDT acts exclusively as a nerve poison, and it is a primary action of DDT to augment the repetitive excitability of neuron soma. It has been suggested by Roeder *et al.* that sensory neurons of cockroach leg are affected by DDT, and that the initial symptoms of excitability and tremors due to the reflex effects of an indiscriminate barrage of impulses of sensory origin. And Dresden concluded that the facilitation of synaptic transmission in the central nervous system plays the most important role for the development of symptoms. Our theory is not against these two views but covers them, for it states that the augmentation of repetitive excitability of neuron somata in both the sensory and the motor system causes the abnormality in the synaptic transmission, which brings about disorder of the reflex function, *i. e.*, the initial symptoms of postural and locomotor instability and ataxia. Convulsion, the secondary step of the course of DDT poisoning, is brought about by the secondary or deteriorative effect of poisoning to the nervous system, after the primary or unstabilizing action has passed away. DDT has no intimate relation to the death of the poisoned insect, but paralysis and death are the inevitable results due to the deterioration of the nerve.

Errata in Vol. 18

Page	Line	Error	Correction	Page	Line	Error	Correction
63	33(left)	devised	devised	151	Table 3, 36	Italicized	Italicized
64	15(left)	later,	omit	154	13 (right)	7 and 8	3 and 4
67	Table 4	of which The Electrolytic Solution	, The Electrolytic Solution of which	156	19 (left)	pyrethrins	pyrethrin
				157	41 (left)	pyrethrins	pyrethrins
				157	21 (light)	e	d
138	Table 4	lindane	lindane	160	Fig. 14	polarograms	polarogram
145	29(left)	housefly	housefly	163	Fig. 15	No. 10	No. 10
149	37(right)	similar	similar	163	34 (left)	to be	be
				167	Table 19	possibility	possibility