

魚類黒色素胞のアドレナリン凝集機構

II. チラミン類の作用

伊 賀 哲 郎

Action of Tyramine and Its Derivatives on the Melanophores in
a Teleost, *Oryzias latipes*.

Tetsuro IGA

Department of Biology, Shimane University, Matsue, Japan
(Received November 30, 1967)

ABSTRACT

The responses of melanophores in isolated scales of *Oryzias latipes* to five sympathomimetic amines with an OH group on the phenyl ring, including octopamine, sympatol, phenylephrine, tyramine and hordenine, were quantitatively investigated under a microscope. All of the compounds, except hordenine, strongly induced concentration of the pigment within innervated melanophores. Relative activities for causing pigment concentration were found to be closely similar to each other between octopamine and tyramine and between sympatol and phenylephrine. In these two groups, the former was slightly strong in the concentrating activity. The concentrating action of hordenine on innervated melanophores was extremely weak, and increase in concentration of the drug caused no marked increase in the response. In its high concentrations, the pigment showed a redispersion after a transitory concentration.

Chronically denervated melanophores were less sensitive to all amines tested as compared with innervated ones. The reduction in the sensibility after denervation was small in octopamine, sympatol and phenylephrine, but very large in tyramine. From these results the following conclusions were made. 1) These amines have both direct and indirect actions on the melanophore concentrating system. 2) For sensitized response of denervated melanophores, the phenolic hydroxyl groups on the phenyl ring are of greater importance than are presence of the alcoholic hydroxyl group on the beta carbon atom of the side chain, the presence or absence of the latter being of less significant than are assumed hitherto in smooth muscles. 3) The concentrating activity of

an amine is made to reduce by N-dimethylation of the terminal amino group.

魚類の黒色素胞は平滑筋と類似構造の細胞とみなされ (Spaeth, 1916) , その観点にたつての薬理学的研究もかなりある (Spaeth and Barbour, 1917; Lowe, 1917; Wyman, 1924; Verne and Vilter, 1935; Watanabe et al., 1962) 。平滑筋においては薬物の作用機構の解明から、薬物の化学構造と薬理作用との関連が論議されている (Fleckenstein and Burn, 1953; Maxwell et al., 1959; Trendelenburg et al., 1962; Schmidt and Fleming, 1963) 。Marley (1962) はネコの虹彩で除神経および reserpine 処理後の感受性変化に基礎をおいて sympathomimetic amine を3群に分類している。第1群は分子構造中にOH基をまったくもたない phenylethylamine 類であり、それらの散瞳効果は除神経後では消失した。第2群は芳香環か、または側鎖の β 炭素のいずれかに1個のOH基をもつ物質であり、これらの物質の散瞳作用に対するいき値は除神経後一般に上昇した。第3群は芳香環に2個のOH基をもつか、または芳香環に1個のOH基をもち、さらに側鎖の β 炭素にOH基をもつアミンで、これに対しては除神経虹彩は感受性増大を示した。

一方、魚類黒色素胞ではこうした立場からの知見は極めて少ない。松井 (1965) はメダカの摘出うろこ黒色素胞に対する ephedrine の作用を調べ、ephedrine は正常黒色素胞に対しては凝集作用をもつが、神経退化後はその作用は消失することを観察し、ephedrine は神経系を介して黒色素胞凝集に働くと結論した。このことは平滑筋受容体に対する sympathomimetic amine の分類がそのまま魚類の黒色素胞受容体に適用できないことを示すものであり、このことはさらに黒色素胞に対するアドレナリン作用発現機構の解明の動機を与えた。前報 (伊賀, 1968) では catecholamine と DC I についての結果から アドレナリン凝集作用発現にカテコール核OH基の重要性を指摘した。本報では芳香環に1個のOH基をもつアミン類について、黒色素胞に対する凝集活性と化学構造との関連を調べ、それによってアドレナリンの作用機構を追及する目的で若干の実験を行った。

材 料 と 方 法

材料としては野生型メダカ *Oryzias latipes* (体長22—35mm) の摘出うろこ黒色素胞を用いた。生理的塩類溶液は山本 (1949) による淡水産硬骨魚類のためのものであり、 NaHCO_3 で pH 7.2に調製した。試験薬物はすべてこの生理的塩類溶液に溶解して用いた。KCl 溶液は生理的塩類溶液と等張 (M/7.5) のものを NaHCO_3 で pH 7.2 として使用した。神経退化標本の作製、黒色素胞の反応の測定は前報のそれらと同じ方法であった。試験薬物は次の5種であった。*dl*-octopamine hydrochloride (Sigma, U. S. A.) , sympatol tartarate (K & K Lab. Inc. U. S. A.) , phenylephrine hydrochloride (新日本薬業) , tyramine hydrochloride

ride (半井化学), hordenine sulfate (半井化学)。

結 果

1. octopamine (*dl*-*p*-hydroxyphenyl ethanolamine) の作用

試験液の適用に先だて、等張 KCl 溶液を5分間作用させ、正常黒色素胞にあつては完全凝集が誘起されることを、神経退化標本では凝集がまったくみられないことを確認した。この

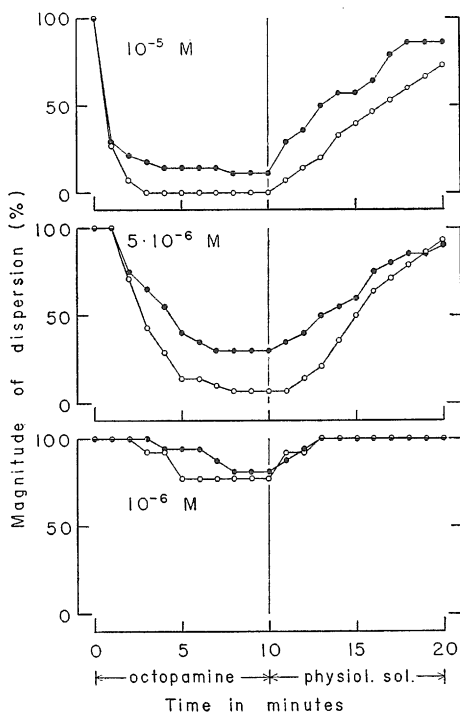


Fig. 1. Typical responses of innervated (empty circles) and denervated melanophores (solid circles) to octopamine. Room temp. : 20–24°C.

確認処理後、生理的塩類溶液にかえし、その中に10ないし15分間保った。このうち、各種濃度 (5×10^{-7} – 10^{-5} M) の試験液を10分間作用させ、その際に誘起される反応を記録した。正常および神経退化標本についての各濃度での時間—反応関係の典型的な例を第1図に示した。試験液適用による黒色素胞の凝集経過は比較的速やかであり、いずれの濃度においても10分以内に安定した状態をとった。試験液を生理的塩類溶液にかえしたのちにみられる黒色素胞の凝集からの回復の速さは正常と神経退化標本で差異は認められず、nor-adrenaline のそれと比較すると速やかであった。このような測定を各濃度について10例以上行ない、それらの値から各濃度における反応平均値および標準誤差を求めた(第1表)。薬物の凝集効力は試験液適用中における黒色素胞の最大凝集値を拡散度で示してある。従って100%は凝集効果のみられなかったことを、0%は完全凝集を示すことになる。黒色

Table 1. Numerical representation of the concentration response to various strengths of octopamine of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. In parentheses are the number of experiments. For details see text. Room temp. : 20–24°C.

Concentration of octopamine (M)	Mean value of the extent of response \pm S. E. (%)		Level of significance
	Innervated	Denervated	
5×10^{-7}	94.5 \pm 3.42 (11)	94.8 \pm 2.96 (11)	>0.9
10^{-6}	74.8 \pm 6.10 (11)	80.9 \pm 3.32 (11)	0.5 > P > 0.4
5×10^{-6}	7.6 \pm 3.20 (11)	34.9 \pm 3.24 (11)	<0.005
10^{-5}	2.8 \pm 1.52 (11)	14.2 \pm 3.68 (11)	0.1 > P > 0.05

素胞凝集に対する octopamine のいき濃度は正常および神経退化標本で共に $5 \times 10^{-7}M$ 程度であった。第1表の反応値から、濃度—反応関係を求めた(第2図)。グラフは縦軸に反応の大きさを枝の長さの百分率(拡散度)で、横軸に試験液の濃度を対数で示してある。神経退化標本に対する濃度—反応曲線は正常標本のその右側に位置した。このことは神経退化による octopamine に対する黒色素胞の感受性低下(subsensitization)を示すものである。因に、この濃度—反応曲線から、50%凝集濃度を求めると、正常および神経退化標本でそれぞれ $1.82 \times 10^{-6}M$, $2.90 \times 10^{-6}M$ となり、その感受性変化率は0.6となり、約1/2の感受性低下を示した。

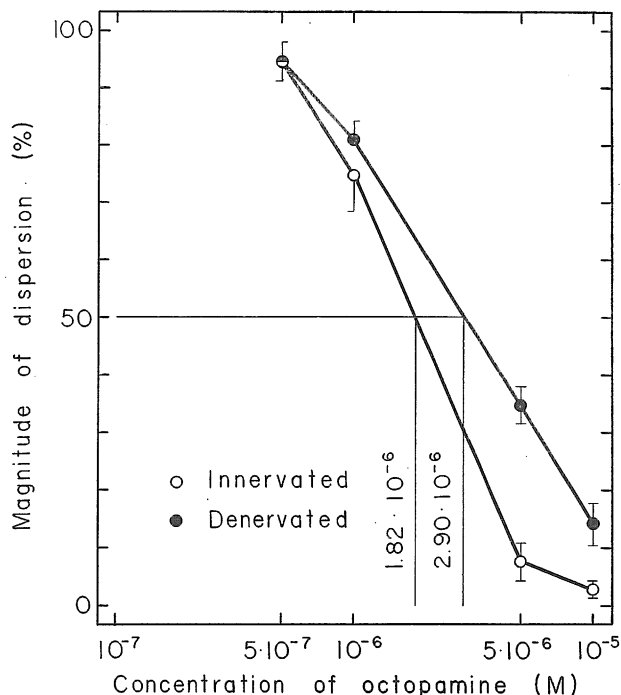


Fig. 2. Strength-response relation in the concentration response to octopamine of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. Perpendiculars drawn up and down from the circles indicate the standard errors of the mean. Room temp.: 20–24°C.

2. sympatolの作用

sympatol (p-hydroxyphenylethanol methylamine) の各種濃度液 ($5 \times 10^{-7} - 10^{-4}M$) を用い、octopamine と同様な方法で実験した。凝集のためのいき値は両標本共に $5 \times 10^{-7} M$ 程度である。また完全凝集濃度は正常標本では $10^{-4}M$ であり、神経退化標本ではこれより高い。試

Table 2. Numerical representation of the concentration response to various strengths of sympatol of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. In parentheses are the number of experiments. For details see text. Room temp.: 22–24°C.

Concentration of sympatol (M)	Mean value of the extent of response \pm S. E. (%)		Level of significance
	Innervated	Denervated	
5×10^{-7}	97.4 \pm 1.14 (11)		
10^{-6}	90.2 \pm 3.42 (11)	94.4 \pm 2.53 (11)	0.8 > P > 0.7
5×10^{-6}	43.5 \pm 5.33 (11)	65.4 \pm 6.27 (12)	< 0.005
10^{-5}	19.8 \pm 3.96 (12)	50.3 \pm 6.99 (12)	< 0.005
10^{-4}	2.9 \pm 1.42 (12)	17.1 \pm 5.09 (12)	0.05 > P > 0.02

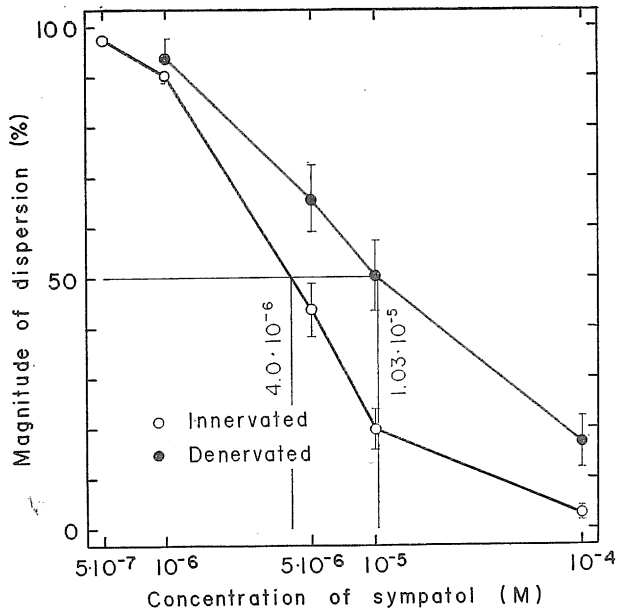


Fig. 3. Strength-response relation in the concentration response to sympatol of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. Perpendiculars drawn up and down from the circles indicate the standard errors of the mean. Room temp.: 22–24°C.

の各種濃度液 ($5 \times 10^{-7} - 10^{-4} \text{M}$) を用い実験を行なった。正常黒色素胞での凝集経過、凝集の大きさおよび生理的塩類溶液にかえしたのちの凝集からの回復等は sympatol のそれらと著しく類似した。各種濃度に対しての平均値および標準誤差を求め第3表に、濃度—反応関係を第4図に示した。正常および神経退化標本での50%凝集濃度を求めると、それぞれ $4.9 \times 10^{-6} \text{M}$, $2.07 \times 10^{-5} \text{M}$ となり、神経退化による黒色素胞の subsensitization が認められる。このことは両曲線の位置関係からも示されておることであり、その感受性変化率は0.2となった。感受性減弱の程度は sympatol のそれよりわずかに大であった。

Table 3. Numerical representation of the concentration response to various strengths of phenylephrine of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. In parentheses are the number of experiments. For details see text. Room temp.: 22–25°C.

Concentration of phenylephrine (M)	Mean value of the extent of response \pm S. E. (%)		Level of significance
	Innervated	Denervated	
5×10^{-7}	100 (9)	100 (11)	
10^{-6}	88.0 \pm 4.37 (10)	100 (11)	
5×10^{-6}	49.6 \pm 5.44 (11)	78.8 \pm 5.21 (11)	<0.005
10^{-5}	20.7 \pm 7.91 (12)	59.6 \pm 2.84 (11)	<0.005
10^{-4}	2.1 \pm 0.37 (11)	29.6 \pm 4.00 (11)	<0.005

験液による凝集経過および生理的塩類溶液にかえしたのちの凝集からの回復の速さは octopamine のそれと差異は認められなかった。各種濃度における測定値より、反応平均値および標準誤差を求め、第2表に、また濃度—反応関係を第3図に示した。50%凝集濃度は正常および神経退化標本でそれぞれ $4.0 \times 10^{-6} \text{M}$, $1.03 \times 10^{-5} \text{M}$ となり、神経退化による黒色素胞の sympatol に対する subsensitization が認められた。その感受性変化率は0.4であった。

3. phenylephrine の作用

phenylephrine (m-hydroxyphenyl ethanol methylamine)

4. tyramine の作用

tyramine (p-hydroxyphenyl ethylamine) の各種濃度液 ($5 \times 10^{-7} - 10^{-3}M$) を用いて実験を行なった。正常標本での凝集いき値は $5 \times 10^{-7}M$ 程度であり、 $10^{-5}M$ で完全凝集が起こる。凝集の経過、また生理的塩類溶液にかえたのちの凝集からの回復の速さは octopamine のそれらと大差は認められなかった。

一方、神経退化標本では凝集効果は著しく減弱し、凝集いき値は $10^{-4}M$ 程度となった。各濃度における反応平均値および標準誤差を求め (第4表)、濃度-反応関係を第5図に示した。正常標本での50%凝集濃度は $2.3 \times 10^{-6}M$ であった。神経退

化標本では tyramine に対する感受性の著減のため、50%凝集濃度は得られなかった。そこで、いき値付近 (90%拡散度において) で感受性変化みると、約 $\frac{1}{250}$ の減少となった。

5. hordenine の作用

hordenine (p-hydroxyphenyl ethyldimethylamine) の各種濃度液 ($10^{-5} - 5 \times 10^{-3}M$) を用いて実験した。正常標本での凝集いき値は $10^{-5}M$ 程度である。液濃度をさらに高くしても、

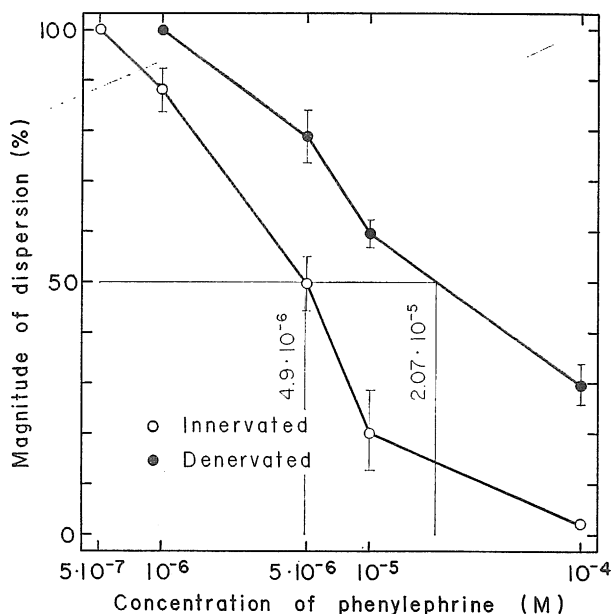


Fig. 4. Strength-response relation in the concentration response to phenylephrine of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. Perpendiculars drawn up and down from the circles indicate the standard errors of the mean. Room temp.: 22-25°C.

Table 4. Numerical representation of the concentration response to various strengths of tyramine of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. In parentheses are the number of experiments. For details see text. Room temp.: 18.6-23.0°C.

Concentration of tyramine (M)	Mean value of the extent of response ±S. E. (%)	
	Innervated	Denervated
5×10^{-7}	99.4 ± 0.60 (10)	
10^{-6}	93.4 ± 5.11 (11)	
5×10^{-6}	9.5 ± 3.74 (11)	
10^{-5}	0 (14)	100 (5)
10^{-4}		97.6 ± 1.79 (11)
10^{-3}		79.2 ± 3.54 (13)

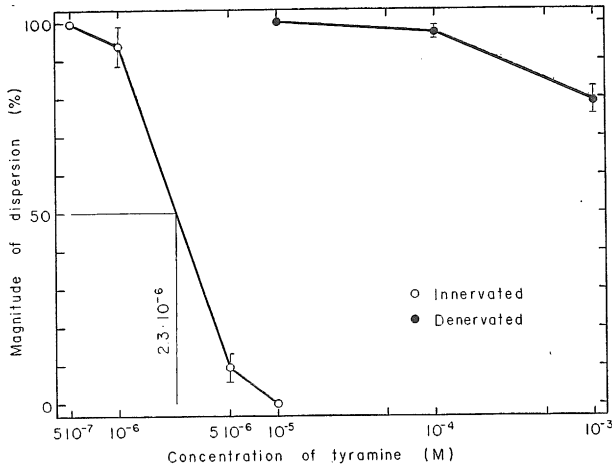


Fig. 5. Strength-response relation in the concentration response to tyramine of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. Perpendiculars drawn up and down from the circles indicate the standard errors of the mean. Room temp. : 18.6–23.0°C.

での再拡散，生理的塩類溶液にかえてのちの凝集の進行は認められなかった。hordenineの各濃度での反応値を第5表に，濃度—反応関係を第6図に示した。濃度—反応関係は両標本ともに，横軸に平行的となり，神経退化のそれが上部に位置した。このことは神経退化による黒色素胞の感受性低下を示すものである。両標本共に50%凝集濃度は得られなかった。いき値付近（90%反応値）での感受性変化率は約 $\frac{1}{28}$ の減少であった。

考 察

魚類黒色素胞に対する sympatol の作用 (Ciabatti, 1929) , sympatol および tyramine

Table 5. Numerical representation of the concentration response to various strengths of hordenine of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. In parentheses are the number of experiments. For details see text. Room temp. : 25.8–29.0°C.

Concentration of hordenine (M)	Mean value of the extent of response \pm S. E. (%)		Level of significance
	Innervated	Denervated	
10^{-5}	99.5 \pm 0.55 (11)		
5×10^{-5}	90.4 \pm 4.13 (11)		
10^{-4}	81.3 \pm 3.66 (12)	100 (7)	
5×10^{-4}	82.5 \pm 3.51 (12)	97.6 \pm 1.82 (12)	0.025>P>0.01
10^{-3}	80.0 \pm 6.03 (11)	96.0 \pm 2.95 (12)	0.2>P>0.1
5×10^{-3}		69.2 \pm 6.04 (10)	

反応量の増加は著しくなく， 5×10^{-4} Mより高濃度では処理中に凝集に続いて拡散が始まる。また 5×10^{-5} M， 10^{-4} Mでは処理中わずかな凝集がみられる場合や，まったく凝集が認められないことがあるが，生理的塩類溶液にかえすと，凝集は持続的であったり，さらにそれが進行したり，処理中で変化が認められなかった場合でも，後作用として凝集が起こるようなことがみられた。神経退化標本では凝集いき値は 10^{-4} M程度であり，液濃度が増すともない凝集はわずかずつ大となった。適用中

の働き方 (松井, 1965) についてはすでに報告があるが, それらの凝集活性および感受性変化の量的比較についてはなされていない。本実験に用いた薬物は, 正常標本については, horde-nine を除いて, すべて強い凝集作用を示した。それらの凝集活性は octopamine と tyramine, sympatol と phenylephrine とで同程度であり, 二群間では前群がわずかに強い効果を示した。これらの関係を第7図に示した。またすべての薬物は, 神経退化標本に対しても凝集作用を示した。この場合, これらのアミン類では対薬物感受性は低下をみた。octopamine, sym-

patol および phenylephrine に対する黒色素胞の感受性低下はわずかであったが, tyramine に対するそれは極めて著しかった。ために神経退化標本では, これらのアミン類の活性序列は octopamine > sympatol > phenylephrine » tyramine > hordenine となった (第8図)。このように, 本実験に用いた5種のアミン類は神経退化による感受性変化に基礎を置くと, 黒色素胞凝集反応に対する作用様式に関して同一群に包括することができる。このことは魚類黒色素胞においては, 芳香環に1個のOH基をもつアミンは側鎖のβ炭素OH基の有無とは関係なく, 直接と間接の二重作用をもつ混合型アミンに入れるのがよく, 神経退化による感受性減少から, 間接作用がより優勢なアミン類とみなすことができる。そして, カテコールアミン類と本実験に用いたアミン類との働き方の相違は, 直接作用にはアミン分子全体としてのOH基の数ではなく, 少なくとも2個のフェノール性OH基が本質的な構造部分として関与していることを示唆するものであろう。はじめにも述べたように, Fleckenstein and Burn (1953) はネコの瞬膜で除神経後, Schmidt and Fleming (1962) は reserpine 処理後のウサギの回腸片で, Marley (1962) はネコの虹彩で除神経後, および reserpine 処理後, sympatol, phenylephrine に対する supersensitization を観察し, これらの薬物は直接型アミンに属することを指摘し, β炭素OH基の重要性を唱えた。このことは魚類黒色素胞受容体が平滑筋の受容体と異なる重要な点の一つであると思われる。しかしながら, 魚類黒色素胞についても, octopamine と tyramine, 前報での noradrenaline と dopamine の比較が示すように, β炭

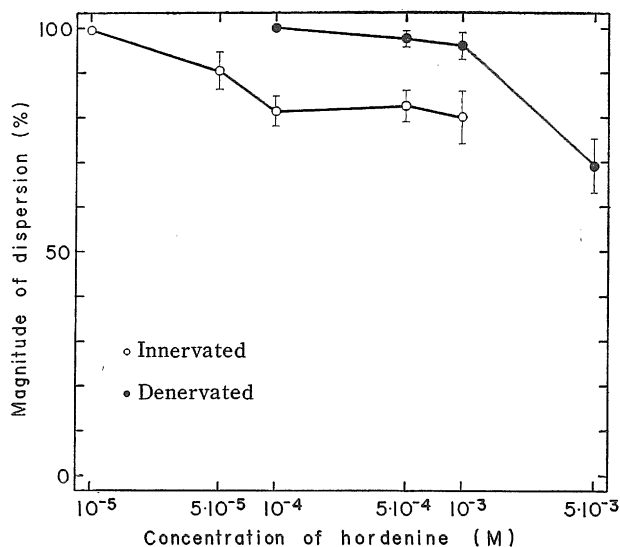
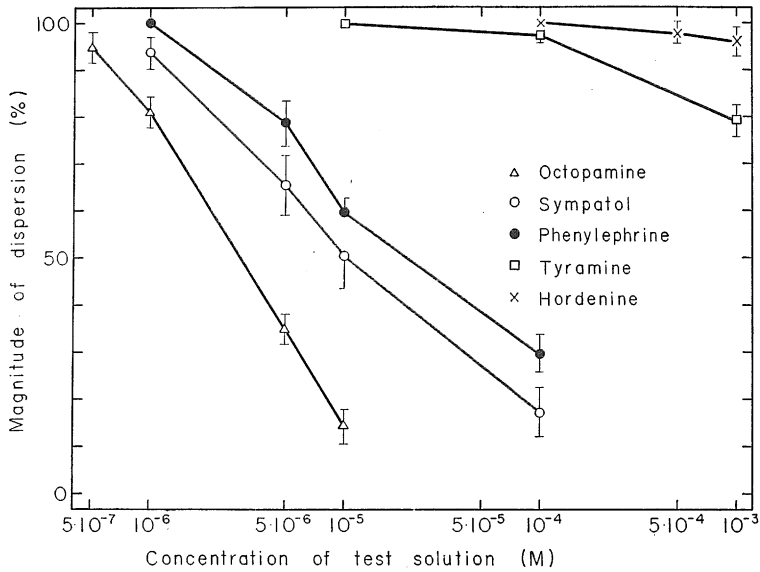
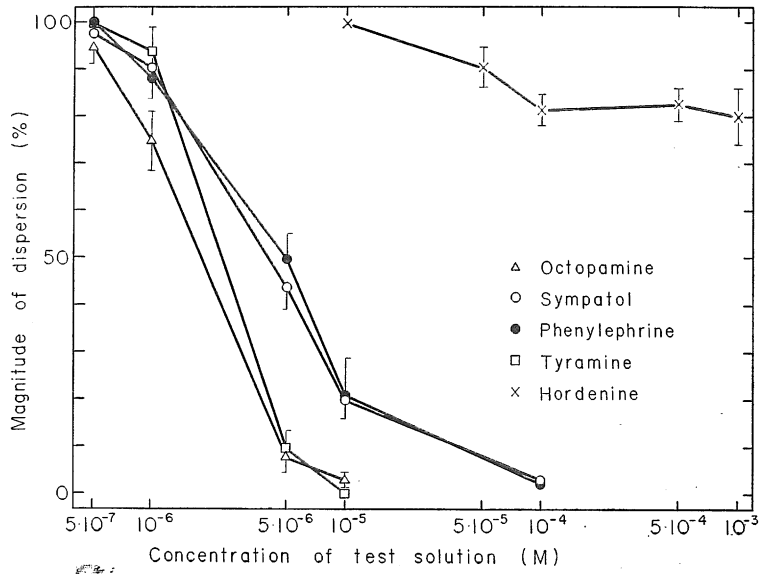


Fig. 6. Strength-response relation in the concentration response to hordenine of both innervated and denervated melanophores of *Oryzias latipes*. Perpendiculars drawn up and down from the circles indicate the standard errors of the mean. Room temp. : 25.8--29.0°C.

素OH基は直接作用に本質的ではないとしても、受容体結合に重要な役割を演じていることは確かであろう。octopamine と sympatol はアミノ基構造部分においてのみ異なるものである。両者の凝集活性を比較すると、正常および神経退化標本ともにわずかに octopamine の活性が強く、また神経退化による感受性減少度も octopamine が小である。noradrenaline と ad-



Figs. 7 and 8. Comparison of the strength-response relation in the concentration response to tyramine group on the innervated (Fig. 7) and denervated melanophores (Fig. 8) of *Oryzias latipes*.

renaline との関係は、化学構造的には octopamine と sympatol との関係にあり、noradrenaline-adrenaline においても、凝集活性、感受性変化に同様な関係がみられている。従って、アミン分子中の N-methyl 化は黒色素胞凝集活性に大きな変化を与えないか、またはむしろそれを減弱させると考えてよい。しかしながら、hordenirne と tyramine の比較が示すように N-dimethyl 化は黒色素胞凝集活性を著減させた。このことはまた黒色素胞凝集には直接的にも、また神経系を介しての間接的にも、アミノ基構造部分が重要な役割を演じていることを示すものであろう。

Trendelenburg et al., (1962) は reserpine 処理後のネコの瞬膜について、para と meta 位の OH 化合物 5 種の活性を検討し、meta-OH が para-OH より直接作用に対して重要であることを示した。しかしながら、Schmidt and Fleming (1963) のウサギ回腸片での実験では、meta と para 位の OH 基の重要性の差異は明らかでなかった。メダカ黒色素胞での sympatol と phenylephrine 結果も para と meta 位の OH 基の相対的重要性は明らかではなかった。この点に関してはなお関連薬物の広範な研究に俟たなくてはならないだろう。

要 約

1. メダカ摘出うろこ黒色素胞を用い、芳香環に 1 個の OH 基をもつ若干の交感神経刺激性アミン (octopamine, sympatol, phenylephrine, tyramine および hordenine) に対する作用を調べ、薬物の化学構造と凝集活性との関連が検討された。

2. 正常黒色素胞に対して、octopamine, sympatol, phenylephrine および tyramine は強い凝集効果を示した。それらの黒色素胞凝集活性は octopamine と tyramine とでは同程度であり、sympatol はわずかに劣った。また、phenylephrine は sympatol と同じであった。

3. これらの薬物は神経退化標本に対しても凝集作用を持つが、神経退化黒色素胞のこれら薬物に対する感受性はいずれも低下した。このことは神経退化による感受性増大にはカテコール核が本質的役割を演ずると思われる。感受性減少の度合は octopamine, sympatol, phenylephrine ではわずかであったが、tyramine のそれは極めて大であった。

4. hordenine は正常および神経退化黒色素胞に対し、極めて弱い凝集作用をもつにすぎなかった。正常標本にあっては高濃度での処理中、凝集に続いて拡散が起こった。この薬物でも、神経退化による感受性低下がみられた。

5. これらのアミン類は黒色素胞凝集に対しては直接より間接作用がより強い混合型アミンとみなされる。

謝 辞

本実験に対し、御懇切な指導を賜わり、また本稿を御校閲下さった広島大学理学部の長浜博教授に深く感謝する。なお、実験にあたっては江角郁子[※]氏の協力を得た。記して感謝の意を表する。

※ 現所属：鳥取大学医学部細菌学教室

文 献

- CIABATTI, O. (1929) Effetti di sostanze adrenalinsimili sui melanofori di due ciprinodontidi eurialini. *Atti Soc. Sci. med. nat. Cagliari*, **31**: 69-84. (Cited from Biol. Abst. **5**, 20146).
- FLECKENSTEIN, A., and J. H. BURN (1953) The effect of denervation on the action of sympathomimetic amines on the nictitating membrane. *Brit. J. Pharmacol.*, **8**: 69-78.
- 伊賀哲郎 (1968) 魚類黒色素胞のアドレナリン凝集機構 I カテコールアミンの作用 動物学雑誌 **77** :
- LOWE, J. N. (1917) The action of various pharmacological and other chemical agents on the chromatophores of the brook trout *Salvelinus fontinalis* Mitchill. *J. Exp. Zool.*, **23**: 147-191.
- MARLEY, E. (1962) Action of some sympathomimetic amines on the cat's iris, in situ or isolated. *J. Physiol.*, **162**: 193-211.
- 松井愛子 (1965 a) メダカ黒色素胞に対するエフェドリンの作用 広島大学生物学会誌 **32**: 14-22.
 ———, (1965 b) メダカ黒色素胞に対するシンパトール, チラミン, ヒロポン及びベンゼドリンの作用 動物学雑誌, **74**: 351.
- MAXWELL, R. A., H. POVALSKI and A. J. PLUMMER (1959) A differential effect of reserpine on the pressor amine activity and its relationship to other agents producing this effect. *J. Pharmacol.*, **125**: 178-183.
- SCHMIDT, J. L. and W. W. FLEMING (1963) The structure of sympathomimetics as related to reserpine induced sensitivity changes in the rabbit ileum. *J. Pharmacol.*, **139**: 230-237.
- SPAETH, R. A. (1916) Evidence proving the melanophore to be a disguised type of smooth muscle cell. *J. Exp. Zool.*, **20**: 193-215.
- SPAETH, R. A., and H. G. BARBOUR (1917) The action of epinephrin and ergotoxin upon single physiologically isolated cell. *J. Pharmacol.*, **9**: 431-440.
- TRENDELENBURG, U., A. MUSKUS, W. W. FLEMING and B. G. A. DE LA SIERRA (1962) Modification by reserpine of the action of sympathomimetic amines in spinal cats; A classification of sympathomimetic amines. *J. Pharmacol.*, **138**: 170-180.
- VERNE, J., and V. VILTER (1935) Reactions pharmacodynamiques des melanocytes de l'ecaille isolee de Carassius. *C. R. Soc. Biol., Paris*, **119**: 1312-1314.
- WATANABE, M., M. KOBAYASHI and K. S. IWATA (1962) The action of certain autonomic drugs on the fish melanophores. *Biol. J. Okayama Univ.*, **8**: 103-114.
- WYMAN, L. C. (1923) Blood and nerve as controlling agents in the movements of melanophores. *J. Exp. Zool.*, **39**: 73-132.
 ———, (1924) The reactions of the melanophores of embryonic and larval *Fundulus* to certain chemical substance. *ibid.*, **40**: 161-180.
- 山本時男 (1949) 動物生理の実験 河出書房 (東京)