

ep 系マウスの病態生理に関する実験的研究

第 1 編

Homocarnosine の ep 系マウスにおよぼす影響について

(本論文の要旨は第35回日本生化学会総会において発表した)

岡山大学医学部第1(陣内)外科教室(指導:陣内傳之助教授)

医学士 杉 生 了 亮

〔昭和38年2月12日受稿〕

第1章 緒 言

ep 系マウスは1954年予防衛生研究所獣疫部長今泉¹⁾によつて発見され、抛り上げ運動(平板上に置いたマウスを平板上から20~30cm 抛り上げる運動)、エレベーター運動、滑走運動(平板上に置いたマウスを水平面上で左右に交互に滑走させる運動)、シーソー運動(体軸の方向でマウスの腹部を支点として行うシーソー様運動)、振り運動らの体平衡を失わしめるような運動を体位変換刺激としてくり返して与えることにより、その成熟型では容易にかつ100%に定型的な痙攣発作を起すマウスである。

私の観察によると、痙攣発作を起す時期は早いもので生後7週位であるが、大部分のものは生後11週前後であり、これ以前ではいかに前記刺激を与えても痙攣発作を起さない。また最初に起す痙攣発作の型は不全型が多いが、20%前後においては最初より、いわゆる典型的な痙攣発作をもつて始まる。不全型で始まったものもその後3~5回の発作を起すにつれ次第に定型的のものへと移行してゆく。この頃になると痙攣発作を起すに必要な体位変換刺激の回数も一定となり、50回以下に統一されてくる。発作の型式は最初鳴声を発し(鳴声を発しないものもある)、強直性ついで間代性痙攣と移行し、終了後は行動の抑制・朦朧状態が暫らく続く。

この痙攣発作誘発の難易を左右する主な因子としては、気圧・気温・湿度らの気象因子および妊娠がある。高温、多湿および妊娠前半期ではおおむね発作を起しがたいが、高気圧および妊娠後半期は起し易い傾向がみられる。なお一旦発作を起し始めると、それ以後は生後日数にはあまり関係がなく、老衰に

よつて起りがたくなることはない。

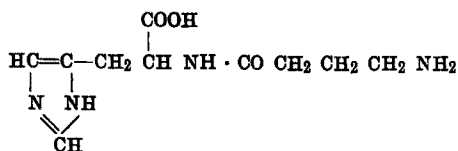
以上が ep 系マウスの概要であるが、成熟 ep 系マウスには生理的な体位変換刺激により容易に他の実験動物にはみられぬ痙攣発作を起す性質があることから、これは遺伝的に痙攣準備状態の異常亢進が規定されているものと考えられ、とくに発作発現に薬物や電気などの刺激を必要としないことから、痙攣発作の発現機序、さらにはヒトのてんかん発作の発現機序を解明するには得がたい実験動物として諸家より注目されている。

すでにこのマウスの脳代謝に関する生化学的検索は、成瀬・黒川^{2,3)}によりなされ、アセチルコリン系代謝ならびに γ -アミノ酪酸代謝に関連した部分に異常があると報告されている。

私どもの教室においてもこのマウスの分譲を受け、数年前より生化学的研究を続け、成瀬らと同様の成績を得ている。さらに笠原⁴⁾は他系マウスとの間に Parabiosis を形成し、血液・体液の交流をはかると、ep 系マウス特有の痙攣発作は消失するという知見を得てより、痙攣発作を阻止する何らかの Factor がこのマウスに欠乏ないし欠損しているものと推論している。

さて、Homocarnosine (γ -aminobutyryl-L-histidine) は1961年 Pisano⁵⁾により牛脳中より抽出された物質で、正常牛脳中には脳100gあたり0.5~1.0mg 含まれているといわれており、その化学構造(図1)の示す如く γ -aminobutyric acid (以下 GABA と記す)の誘導体である。一方中枢抑制作用があるといわれている GABA 関連物質を投与した場合の ep 系マウスの痙攣発作に対する影響は、すでに教室の笠原⁴⁾により抑制効果がないと報告さ

図1 Homocarnosine の化学構造式



れているが、私は blood-brain barrier にさえぎられて脳内に移行しがたいのではないかと考え、直接脳脊髄液内に注入することにより Homocarnosine (以下 Hc. と略記する) の ep 系マウスにおよぼす影響を観察した。

以下私は教室の森⁶⁾によつて精製された Hc. を使用し、ep 系マウスの痙攣発作に対する抑制効果を中心に、Hc. の ep 系マウスにおよぼす影響ならびにアセチルコリン系代謝におよぼす影響を検索した。

第2章 実験方法

第1節 実験動物

ep 系マウス

生後10週を過ぎればおおむね痙攣発作を起し始めるため、生後11週より訓練を開始し、その中より次の条項をすべてみたすものを使用した。

- 1) 定型的痙攣発作を起し始めてより少くとも2週以上を経過したもの。
- 2) 体位変換刺激の回数50回以内で連日定型的痙攣発作を起すもの。
- 3) 生後25週以前のもの。

なお、体重は26g前後のものが多く、また訓練は体位変換刺激として平板上に置いたマウスを90~100 times/min. の速さで、平板上から5~15cm 持ち上げる“持ち上げ運動”を採用し、これを連日1回与えて行つた。

対照マウス

ep 系マウスとはほぼ同一成長時期で同体重の CF-1 系マウスを選んで使用した。

なお、両系マウスとも飼料はオリエンタルの実験動物用固形飼料を与え、同一条件下で飼育した。

第2節 薬剤注入法

各薬剤とも脳圧の変化を考え、注入全量が0.01 ml をこえないようにし、細針を用いて皮膚上より頭蓋骨を貫通し、前頭部中央附近の蜘蛛膜下腔に徐々に注入した。

なお Hc. は水溶性であるため、注射用蒸留水0.01 ml に各濃度が含まれるように溶かして使用し

た。

第3節 試料作製

両系とも自由に動かし安安静時マウスを大型のはさみを用いて一挙に断頭し、開頭後可及的に両大脳半球をとり出し、余分の水分を濾紙にて吸いとり秤量し、直ちに氷室に入れ以下の実験に供した。

第4節 大脳 Cholinesterase 活性値の測定法

Cholinesterase (以下 ChE と略記する) 活性値の測定には、従来 Acetylcholine (以下 ACh と略記する) を主体とする基質に被検組織を混じて加温し、加水分解により出てくる酢酸を希アルカリで滴定する Vincent, Segonzac et Deprat の方法⁷⁾、或は酢酸を予め基質に加えた重曹に反応させ、発生する CO₂ 量を検圧計で測定する Ammon⁸⁾ の方法などが用いられているが、いずれも操作が煩雑な欠点がある。このため近年酢酸発生による基質 pH の低下-ΔpH を測定することにより組織 ChE 濃度を知る検査方法が種々報告された。Vorhaus, Scudamore and Kark⁹⁾ および Alcalde¹⁰⁾; 高橋、柴田ら¹¹⁾ の方法である。私は高橋・柴田法を参照して ACh 製剤 Ovisot を用い、Phenol red を比色による反応進行の標示としながら、さらに pH meter により組織加基質と対照の pH を測定し、その低下-ΔpH を求めた。

なお前項で述べた剔出した大脳は Ringer 液を加えて10%の homogenate とした。

第1項 試薬

1) 緩衝液 (pH8.3)

200 ml 容ビーカーにバルビタール 0.6 g をとり、蒸留水 100 ml を加え加温溶解後室温に冷し、これにバルビタール・Na 2.0 g および β-グリセロ磷酸ナトリウム 2.5 g を加えて 500 ml メスシリンダーに移し標線まで蒸留水を追加する。これを pH meter により測定し、pH 8.3 であることを確かめ、もしこれより高ければ 1N-HCl を加えて調製する。この緩衝液は少量のクロロホルムを加えて氷室に保存すれば2ヶ月間は安定である。

2) Acetylcholine 液

塩化アセチルコリン (第一製薬株式会社製の注射薬 Ovisot を使用) 0.1 g を使用直前に蒸留水 2.0 ml に溶解して作製した。

3) 40 mg/dl phenol red 液

Phenol red (特級品) 100 mg を秤り 0.1 N-NaOH

3.0ml および水 7.5ml を加えて加温溶解し、放冷後水を追加して全量を 250 ml とする。

4) Eserin 液

i) 保存液：硫酸エゼリン 0.1 g を 20 ml に溶し褐色瓶に入れて氷室に保存する。

ii) 使用液：保存液 1.0 ml を水で 10 倍に薄める。これも氷室に保存し明かに着色（桃色）するまでは使用しうる。

第 2 項 測定器具

掘場製作所製の HRL pH Meter M-3 型を使用した。

第 3 項 実施

試験管 A および B にそれぞれ下記の順序に試薬を加えてよく混和し、直ちに 37°C 恒温槽にひたし時々振盪混和する。なお剔出秤量より加温までの脳組織を扱う過程はすべて水中に冷却しつつ操作し、ChE 活性による影響をできるだけ抑制するようにした。

A (対照)：緩衝液 1.5 ml + 蒸留水 3.0 ml + ACh 液 0.5 ml + phenol red 液 0.15 ml

B (組織加質)：緩衝液 1.5 ml + 蒸留水 3.0 ml + ACh 液 0.5 ml + 10% homogenate 0.2 ml + phenol red 液 0.15 ml

正確に加温 60 分後 A, B 両試験管を槽より出し、すばやく Eserin 液 1~2 滴を加えて混和し ChE 活性を阻害する。pH meter により A, B 両試験管の pH, すなわち pH A および pH B を求めれば、ChE 活性値は $-\Delta pH = pH B - pH A$ によつて表される。

第 5 節 大脳総 Acetylcholine 定量法

組織から ACh を抽出するためには Chang および Gaddum の三塩化酢酸法¹²⁾, Mentzer および Kaswin の Aceton 法¹³⁾, Mentzer の Eserin 法¹⁴⁾らが行われている。三塩化酢酸による場合は抽出に用いられたこれらの薬液を後の操作により追出すことがやや困難な欠点があるが、得られる ACh の値は Eserin 加 Ringer 液を用いた場合より一般に高い¹⁵⁾といわれている。私はマウスの脳組織量より考慮して福原¹⁶⁾の記載に従つて三塩化酢酸により抽出を行つた。またこの定量法には生物学的的方法と化学的方法とがあり、後者は精密度において優つているが、前者は生理的条件に近く感度が鋭敏であるため、従来もつばら生物学的的方法が用いられている。このうち蛙の直腹筋を用う方法は水蛙の背筋法に比し感度は多少劣るが収縮弛緩が早くかつ正確で

あり、温度による影響を受けがたいとされているため、私は米沢の報告¹⁷⁾を参照し蛙直腹筋を用いて定量を行つた。

第 1 項 Acetylcholine 抽出法

剔出した大脳を直ちに秤量し、ピーカーにとつた 10%三塩化酢酸 2ml 中に投じて、すばやく眼科用のはさみにより粟粟大以下の微粒に細切する。これを時々振盪しつつ 2 時間放置して組織蛋白を沈澱させ、組織中の ACh を三塩化酢酸に移行せしめる。

ついでガラス濾過器を用い陰圧を加えてこれを濾過し、残つた組織片をさらに約 2 ml の 7%三塩化酢酸で 2~3 回洗滌する。

こうして蛋白を除外した抽出物を分液漏斗にうつし、これを 5~6 倍量のエーテルを加えて分液操作を行い脂肪・三塩化酢酸を除く。この操作を pH が約 6 になるまで (6 回以上) くり返す。残つた抽出物は磁製皿にとり、1 日冷室に放置した後、0.05% 重曹水により pH 7 に補正し 60°C の送風乾燥器中で乾燥させる。

第 2 項 生物学的 Acetylcholine 定量法

1) 使用筋標本

やや小なる殿様蛙 *Rana nigromaculata* の雄を型の如く断頭し脳および脊髄を破壊したのち、直腹筋の薄くすき透つてみえるごときものを選び周囲組織より分離して左右に切半し、その一半をもつて実験に供した。

2) 測定装置

筋標本が浸漬するとき深さ約 5 cm 20 ml 容量のガラス容器、クリップ付き細ガラス管および描写槓杆をそれぞれ下記のごとく万能支持器に装置した。

ガラス容器：恒温槽にひたし、さらにこの槽中を迂回した螺旋状管にて Ringer 液槽に直結する。

細ガラス管：ガラス容器中に挿入し、先端のクリップにて筋標本下端を挟持し、管の他端は酸素ポンペに連結する。

描写槓杆：基部はクリップにより筋標本上端に連結し、その先端は Kymographion 上に接触させる。なお槓杆の拡大はおよそ 10 倍とし約 2g の重錘をつけた。

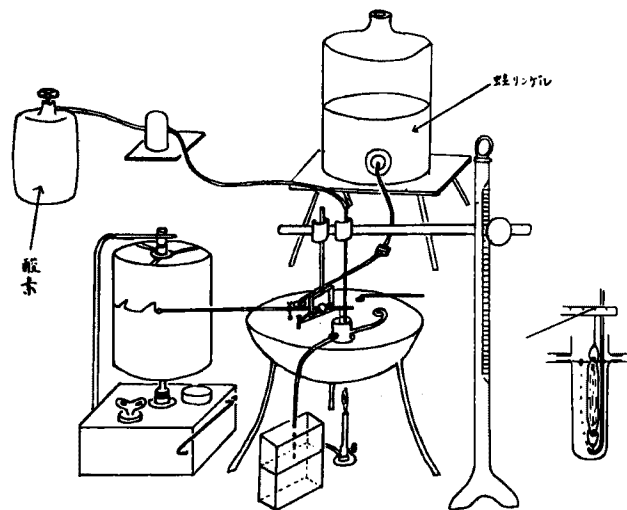
3) 使用試薬

蛙 Ringer 液：下記の組成により作製した。

NaCl 0.6%, KCl 0.02%, CaCl₂ 0.02%, NaHCO₃ 0.02%。

ACh 溶液：前記の Ovisot を用いて 10⁻⁵/2, 10⁻⁵/3, 10⁻⁵/4, 10⁻⁶ の各濃度溶液を作製した。

図2 Acetylcholine 量測定装置



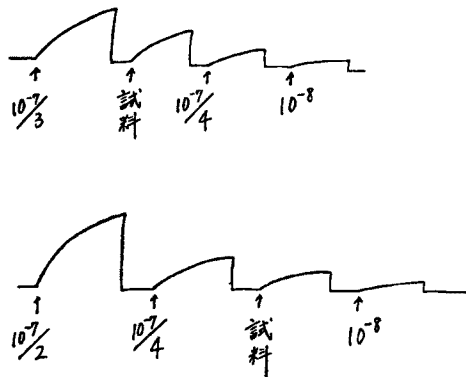
Eserin 液：前記の Eserin 使用液を用いた。

第3項 実施

筋標本を描写楯杆に装備し、ガラス容器中の蛙 Ringer 液に浸漬して十分安定化するのを待つ。ついで Eserin 使用液を $10^{-5}/2$ の濃度になるごとく加え、約10分間待ち ACh に対する増感を施しておく。

まず各濃度の ACh 溶液をそれぞれ $10^{-7}/2$, $10^{-7}/3$, $10^{-7}/4$, 10^{-8} の濃度になるよう容器中の蛙 Ringer 液に加え、各濃度に対する筋の収縮曲線を Kymographion 上に描記せしめる。また蛙 Ringer 液 20 ml に溶解せしめた組織抽出物についても同様に行う。各描記時間は3分間とし、のち蛙 Ringer 液にて十分流洗して筋の弛緩回復を待った。このように各既知濃度の ACh 溶液による収縮曲線が得られれば、それらの曲線(図3)と基線とのなす角度

図3 Acetylcholine 定量キモグラフ



を測定することにより、いわゆる ACh 濃度感度曲線グラフを作成する。同様に組織抽出物溶液による収縮曲線の基線とのなす角度をはかればグラフよりこれに相当する ACh 濃度を求める。

なお容器中の蛙 Ringer 液や被検液の温度は 29°C に保ち、また気泡により液中に酸素を常に飽和せしめるようにした。

第3章 実験成績

第1節 Homocarnosine の前頭部脳脊髄液内注入の ep 系マウスにおよぼす影響

第1項 Homocarnosine の前頭部脳脊髄液内注入時の全身症状

第2章、第2節の方法により各濃度の Hc. を 0.01 ml 宛注入すれば、いずれの場合も数分後より呼吸数・心臓数に50~100%の増加が起る。軽いものでは数分間、酷いものでは約20分間この状態が持続し、次第に注入前の状態に回復する。また同時にマウスの行動も抑制され、注入後暫らくは蹠るものが多かつた。なお飼料の摂取量も注入日には平常の日に比して少い傾向があつた。

対照の Ringer 液および5% glucose 液を各0.01 ml 注入した場合も Hc. に比し比較的軽度であつたが同様の症候がみられ、さらに生理食塩水 0.01 ml 注入においては Hc. と同等あるいはそれ以上の症候がみられた。

なお対照の CF-1 系マウスにおいても同様の症候を呈した。また Hc. の注入濃度を濃くしてもマウスが死亡するようなことはなかつた。

第2項 Homocarnosine の前頭部脳脊髄液内注入の体重への影響

第2章、第2節の方法により Hc. $4\sim 5\text{mg/kg/}$ 0.01 ml を注入し、対照群(無投与群)と比較しながら以後10日まで連日一定の測定時間を定め、石田式自動上皿天秤を用いて体重を測定した。

その結果は表1に示すごとく対照群5例においては日差による体重変動がみられないが、Hc. 注入群においてはかなりの変動がみられた。すなわち

- 1) 15例中8例に5~19%の体重減少がある。
- 2) 体重減少をきたしたものは、注入後1日目に

表1 Homocarnosine 投与時における体重の変化

4~5 mg/kg/0.01ml

性別		注入後日数										
		前	1日	2	3	4	5	6	7	8	9	10
症 例 (単位は g)	1 ♀	30.6	26.8	27.2	28.7	27.8	28.1	28.5	28.7	28.9	29.4	29.6
	2 ♀	26.3	21.8	22.1	24.4	25.0	25.3	25.4	25.4	24.8	25.2	25.8
	3 ♂	26.7	25.6	26.7	26.4	26.6	25.6	27.0	27.0	26.8	26.7	26.8
	4 ♀	24.4	22.9	23.8	23.4	23.4	23.4	24.6	24.6	24.5	24.3	24.5
	5 ♂	23.1	22.1	22.3	22.2	21.7	21.9	22.2	23.1	23.1	23.4	23.6
	6 ♀	22.1	21.9	22.3	22.2	22.3	22.3	22.3	21.8	22.0	22.1	22.4
	7 ♂	24.2	23.1	23.5	23.4	23.2	23.3	24.2	24.5	24.3	24.6	25.0
	8 ♀	24.2	24.0	23.6	24.2	23.6	23.8	24.3	23.0	23.8	24.1	24.3
	9 ♀	24.0	22.9	23.7	23.7	22.9	22.6	23.4	23.2	23.6	23.7	24.0
	10 ♂	28.3	27.0	27.6	28.4	27.4	28.2	27.2	27.9	28.1	28.4	28.6
	11 ♀	26.4	24.0	24.7	24.8	25.1	24.8	24.9	24.7	25.4	25.7	25.9
	12 ♀	30.6	27.2	27.3	27.5	27.2	28.0	28.4	28.1	28.9	29.4	30.4
	13 ♀	26.3	23.1	24.7	24.6	25.3	25.3	25.7	26.1	26.4	26.2	26.1
	14 ♂	25.7	24.4	24.6	24.6	24.8	25.1	24.9	25.4	25.7	25.7	25.8
	15 ♂	26.4	26.1	26.1	26.1	26.4	26.7	25.9	26.1	26.4	26.3	26.3
対 照 (単位は g)	1 ♂		28.1	28.2	28.2	28.4	28.0	28.2	28.8	28.3	28.5	28.4
	2 ♂		25.6	25.5	25.5	25.6	25.6	25.8	25.6	25.8	25.7	25.8
	3 ♀		26.4	26.4	26.3	26.4	26.9	27.0	27.2	26.8	26.8	26.7
	4 ♀		24.2	25.0	25.0	24.7	24.8	24.9	25.0	25.1	24.8	24.6
	5 ♀		25.4	25.3	25.4	25.4	25.3	25.6	25.5	25.5	25.6	25.6

最高であり、以後は日を経るに従い漸次増加し注入前のものに回復する。

3) 体重回復日数は、減少の軽いもので注入後6日前後であり、酷いもので10日前後である。

4) 体重減少をきたしたマウスの雌雄差は ♀:♂ = 6/10:2/5 で僅かに雌の方に多いが、雄の例数少きため雌雄差はほとんどないといつてよい。

以上の如く約50%に5~19%の体重減少をみているが、対照の生理食塩水では Hc. よりさらに強度に、また Ringer 液および5% glucose 液においては僅かに軽度で体重減少が起つている。なお対照の CF-1 系マウスにも同様の成績が得られている。

第3項 Homocarnosine の前頭部脳脊髄液内注入後の肉眼的脳所見

第2章、第2節の方法により Hc. 4~5mg/kg/0.01ml 注入して7日後に断頭し得た成績である。

1) 浮腫状を呈しているもの、25% (20例中5例)。このうち非常に高度に起しているもの10%で大脳重量が浮腫のないものに比し約10%内外増加している。

2) 貧血性を呈しているもの、20% (20例中4例)。

このうち10%は非常に高度で蒼白となつていた。

これら浮腫および貧血は同一マウスに同時に表われており、概して両者の酷いものには外見上瘠身が目立ち体重減少も他のものに比し高度であつた。また対照の Ringer 液および5% glucose 液注入の場合もごく軽微であつたが同様の変化が起り、生理食塩水においては一層強い浮腫状変化をきたしたものが多い。

なお対照の CF-1 系マウスにも同様の成績が得られている。

[小 括]

以上第1、2および3項を通覧してみると、呼吸数・心臓数の増加、行動抑制、体重減少および脳肉眼的所見のいずれの場合も、生理食塩水が一番強く、ついで Hc., Ringer 液および5% glucose の順に弱くなつている。従つてこれら薬剤のマウス脳脊髄液内注入による影響は前記順位に従い弱くなるものと考えられる。

第2節 Homocarnosine の前頭部脳脊髄液内注入による抗痙攣作用

Hc. の抗痙攣作用について述べる前に私の定め

た ep 系マウス痙攣発作に対する抑制効果判定法を紹介する。なお ep 系マウスの痙攣発作には、第1回目の刺激によつては起らなくても2~3分の休止期間後、再度刺激を与えれば起る性質があるため、薬剤の抑制効果判定法は次の如く規定すべきものと考える。

1) 完全に抑制効果があるもの。すなわち、いくら刺激を与えても全然痙攣発作を起さぬもの、これを(-)の記号で表す。

90~100 times/min. の速さで体位変換刺激を与えれば、第1回目の抛り上げ運動150回以内では痙攣発作が起らず、さらに2~3分の休止期間後再度150回の抛り上げ運動を行つても痙攣発作を起さぬとき。

2) 軽度の抑制効果のあるもの。すなわち、なお痙攣発作を弱いながらも起すもの、これを(+)の記号で表す。

a) 第1回目の抛り上げ運動50~150回で痙攣発作を起したとき。

b) 第1回目には起さなかつたが、休止期間後第2回目の抛り上げ運動50~150回で痙攣発作を起したとき。

c) 第1回目あるいは第2回目の抛り上げ運動50回以内で鳴声を発するのみかあるいは不全型の痙攣発作を起したもの。

3) 抑制効果の全く認められないもの。すなわち、実験前とはほぼ同じ回数で抛り上げ運動により痙攣発作を起すもの、これを(++)の記号で表す。

a) 第1回目の抛り上げ運動50回以内で定型的な痙攣発作を起すとき。

b) 第1回目では起らなかつたが、休止期間後第2回目の抛り上げ運動50回以内で定型的な痙攣発作を起すとき。

以上の如き判定法、(-)、(+)および(++)に従い以後の実験成績を判定する。

第1項 Homocarnosine の前頭部脳脊髄液内注入による痙攣発作抑制最少有効量

前記第2章、第2節薬剤注入法により Hc. を種々の濃度に溶かしそれぞれ 0.01 ml 宛注入し、注入後4日目に判定法に従い得た成績が表2である。

Homocarnosine の場合

0.5 mg/kg の注入では5例中1例に(-)で、5例中3例に(++). さらに 1 mg/kg の注入では5例中3例に(-)であるが、なお5例中1例に(++)

表2 Homocarnosine 各濃度による ep 系マウスに対する抗痙攣作用 (注入後4日目)

		例数	-	+	++
Homocarnosine	0.5mg/kg 以下	5	1	1	3
	1.0mg/kg	5	3	1	1
	4~5mg/kg	5	5	0	0
	20.0mg/kg	5	5	0	0
	Ringer 液	5	0	0	5
5% glucose	5	0	1	4	
生理食塩水	5	2	3	0	

〔註〕(++) (+) (-) は痙攣発作抑制効果判定法に従う

である。

しかし 4~5 mg/kg, さらに 20 mg/kg の注入では5例全例に(-)で完全な抑制効果がある。従つて最少有効量は4~5 mg/kg となる。

対照の場合

Ringer 液および5% glucose 液では全例に(++ または(+))であるが、生理食塩水 0.01 ml 注入のものにおいては5例中2例に(-), 5例中3例に(+とかなりの抑制効果がみられる。これは NaCl が塩類として痙攣の機制に重要な関係を有するという Fleisch の説¹⁸⁾ の反対の立場をとるものである。

第2項 Homocarnosine の前頭部脳脊髄液内注入による抗痙攣作用発現の時間的経過

前項で述べた最少有効量 4~5 mg/kg/0.01 ml を注入して抗痙攣作用の発現を時間的に追つてみると、表3の如くなる。なお表の数字は痙攣発作を起した時の第1回目の抛り上げ運動の回数を表わし、()内の数字は同様に第2回目の回数を表わす。

Homocarnosine の場合

注入後6時間では(++ 8, (+) 8, (-) 1.
注入後12時間では(++ 5, (+) 11, (-) 1.
注入後1日目では(++ 2, (+) 14, (-) 1.
注入後2日目では(++ 0, (+) 7, (-) 10.
注入後3日目では(++ 0, (+) 0, (-) 17.
と注入後時間を経るに従い(+)が増加し次第に(-)へと移行して行く。すなわち、2日目では17例中10例に(-)となり、3日目に至ると全例に(-)となつている(このような抑制過程は20mg/kg/0.01ml 注入した場合にも当てはまる)。従つて

注入後3日目よりは全例に完全な抑制効果を認めている。以後は表3の如くこの状態が続き、2ヶ月の観察期間中においては、痙攣発作を連日起すものはほとんどなく、2日続けて起した1例がみられるのみであった。ただ注入後2週を過ぎれば4日に1回の割合で痙攣発作を起すもの、すなわち(+)が17例中4例(23%)にみられた。

対照の場合

表4に示す如く、Ringer液および5% glucose液においては注入後ほとんど痙攣発作の発現に要した抛り上げ運動の回数に変化をみないが、生理食塩水では前項で述べた如く抗痙攣作用があり、注入後1週間後には強力であるが、Hc.に比して抗痙攣作用が早く失われ2週間を過ぎれば再び痙攣発作を起し始める。

第3項 Homocarnosine とその関連物質の抗痙攣作用の比較

Hc.の構成成分であるGABAおよびhistidine, GABA誘導体で中枢抑制作用のある γ -amino- β -hydroxybutyric acid(以下GABOBと記す)、さらにHc.の類縁物質であるcarnosine, carnosineの構成成分であるalanineなどと抗痙攣作用を比較したのが表5である。

Hc.は4~5mg/kg/0.01ml, carnosineは10mg/kg/0.01ml, GABA, GABOB, histidineおよびalanineはそれぞれ50mg/kg/0.01ml注入した。

表5の如くGABA, GABOB, histidineおよびalanineには3週間の観察期間中抗痙攣作用はなかったが、carnosineには多少この作用があり、Hc.と同様の時間的経過を辿りながら3日目より2週の終りまで全例に痙攣発作を抑制している。しかしこれを過ぎれば再び痙攣発作は現われ始め、4週目、5週目では80%に発現し、Hc.の同時期のものに比較し抗痙攣作用が弱い。

第3節 Homocarnosineの前頭部脳脊髄液内注入による大脳筋 Acetylcholine 量におよぼす影響

ep系マウスならびにCF-1系マウスに対してHc. 4~5mg/kg/0.01mlを注入して7日後に、注入しない対照群とともに第2章、第3ならびに5節に述べた方法によりACh量をしらべた。その成績を示せば表6および図4の如くである。

注入しないもの

ep系マウスでは、動揺範囲は1.14~1.35 μ g/gで、5例の平均値は1.26 μ g/gである。

CF-1系マウスでは、動揺範囲は0.65~0.88 μ g/gで、5例の平均値は0.79 μ g/gである。

注入したもの(7日後)

ep系マウスでは、動揺範囲は1.09~1.30 μ g/gで5例の平均値は1.19 μ g/gである。

CF-1系マウスでは、動揺範囲は0.62~0.96 μ g/g 6例の平均値は0.83 μ g/gである。

すなわちep系マウスの注入しないものの平均値はCF-1系マウスの平均値に比して約60%の高値を示している。

一方、これらにHc.を注入すると注入後7日の値は、ep系マウスでは平均1.19 μ g/gと5%の減少を示し、CF-1系マウスでは平均0.83 μ g/gと5%の増加を示している。しかしこの差はあまりにも少く注入前の動揺範囲に入るものであり、従つてHc.注入後7日においては、注入前のものと有意の差はないと考えられる。

第4節 Homocarnosineの前頭部脳脊髄液内注入による大脳 Cholinesterase 活性値におよぼす影響

AChの場合と同様にep系マウスならびにCF-1系マウスに対してHc. 4~5mg/kg/0.01mlを注入して、7日後に注入しない対照群とともに第2章第3ならびに4節で述べた方法によりChE活性値をしらべた。その成績を示せば表7および図5の如くである。

注入しないもの

ep系マウスでは、動揺範囲は $-\Delta$ pH 0.41~0.56で、10例の平均値は $-\Delta$ pH 0.477である。

CF-1系マウスでは、動揺範囲は $-\Delta$ pH 0.45~0.60で、10例の平均値は $-\Delta$ pH 0.538である。

注入したもの(7日後)

ep系マウスでは、動揺範囲は $-\Delta$ pH 0.47~0.55で、10例の平均値は $-\Delta$ pH 0.506である。

CF-1系マウスでは、動揺範囲は $-\Delta$ pH 0.48~0.65で、10例の平均値は $-\Delta$ pH 0.558である。

すなわちep系マウスの注入しないものの平均値は、CF-1系マウスの平均値に比し約13%の低値を示している。

一方、これらにHc.を注入すると注入後7日の値は、ep系マウスでは平均 $-\Delta$ pH 0.506と注入しないものの約5%の増加、CF-1系マウスでは平均 $-\Delta$ pH 0.558と約3%の増加を示しており、両者ともに僅かに増加しているが、十分に動揺範囲内に入る値であるため、必ずしも増加したとはいきれない。

表 3 Homocarnosine 注入による痙攣発作抑制過程

症例	注入後日数	前	6時間	12時間	1日	2	3	4	5	6	7	8	9
1	48	64	(74)	(70)	(136)	—	—	—	—	—	—	—	—
2	38	82	(113)	(135)	(150)	—	—	—	—	—	—	—	—
3	50	(84)	(76)	(70)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	50	46	48	78	95	—	200	—	—	—	—	—	—
5	38	41	(58)	(75)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	46	65	(93)	68	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	43	93	85	(81)	(145)	—	—	—	—	—	—	—	—
9	38	40	39	48	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	36	58	57	(56)	(176)	—	(165)	—	—	—	—	—	—
11	48	46	61	70	(98)	—	(185)	(180)	—	—	—	—	—
12	49	(58)	(55)	(63)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	45	46	75	(78)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	39	37	81	(113)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	42	(41)	(45)	(95)	—	—	—	(85)	—	—	—	—	—
16	46	(56)	(60)	(52)	(84)	—	—	—	—	—	—	—	—
17	33	37	42	45	86	—	—	—	—	—	—	—	—

〔註〕 数字は痙攣発作を起した第1回目の抛り上げ運動の回数を示し () 内の数字は同様2回目の抛り

表 4 対照液注入による痙攣発作発現回数

	注入後日数	前	1日	2	3	4	5	6	7	8
リ ン グ ル 液 0.01ml	1	46	55	50	42	46	54	58	83	51
	2	50	51	48	47	47	49	54	52	55
	3	44	47	38	36	36	36	51	37	38
	4	40	46	37	37	46	46	47	46	52
	5	36	36	39	43	37	38	38	37	36
5 % 糖 液 0.01ml	1	50	47	46	58	43	42	48	48	46
	2	46	34	37	38	36	47	39	51	48
	3	40	45	38	43	44	44	46	47	43
	4	47	58	57	54	—	(49)	(46)	(46)	—
	5	41	39	40	45	48	58	57	56	49
生 理 食 塩 水 0.01ml	1	44	48	70	65	(65)	—	—	—	122
	2	43	54	83	(90)	—	—	—	(121)	(108)
	3	36	38	44	(42)	—	—	(107)	(93)	(86)
	4	37	36	—	(47)	(65)	—	—	—	83
	5	48	(51)	(47)	(84)	(76)	(125)	(156)	(183)	—

〔註〕 数字は痙攣発作を起した第1回目の抛り上げ運動の回数を示し () 内の数字は同様2回目の抛り

4~5 mg/kg/0.01 ml

10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(130)	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	(100)	(98)	—	—	—	—	(93)	—	—	—	(50)	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	(124)	—	—	—	—	—	(196)
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	(78)	—	—	—	(114)	—	—	—	(84)	—	—

上げ運動の回数を示す。

9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
53	42	49	63	89	—	45	(71)	42	46	49	47
49	49	53	67	52	56	(80)	(70)	43	48	51	55
36	58	63	42	48	48	54	50	49	49	51	48
48	49	54	49	48	64	65	71	54	43	42	51
36	35	38	44	48	46	42	39	61	47	43	47
53	52	52	48	47	49	47	46	47	49	51	54
47	46	48	49	52	(30)	(41)	(48)	53	47	(41)	(41)
46	—	48	51	54	56	54	55	52	49	47	49
(64)	(87)	—	47	46	46	48	(61)	(51)	48	48	(61)
47	47	39	42	44	45	43	51	49	48	46	47
89	138	73	(125)	128	90	(130)	78	75	65	75	80
(83)	—	(61)	118	102	78	(124)	69	71	62	48	54
73	112	105	94	64	(72)	(58)	46	54	72	64	63
104	92	—	(65)	—	—	(61)	(150)	113	126	93	76
(116)	(93)	(142)	(76)	(84)	(141)	—	—	(104)	(65)	(86)	(87)

上げ運動の回数を示す。

表 5 Homocarnosine とその関連物質との抗痙攣作用の比較

	注 入 量	注入後 日数	前	1 日	3	7	14	21	28	35
			例数	++ + -	++ + -	++ + -	++ + -	++ + -	++ + -	++ + -
homo-carnosine	4~5 mg/kg/0.01ml	21	21	2 17 2	21	21	1 20	3 18	4 17	5 16
carnosine	10~20 mg/kg/0.01ml	5	5	1 3 1	5	5	2 3	1 2 2	2 2 1	3 1 1
GABA	50 mg/kg/0.01ml	3	3	3	3	3	3	3		
GABOB	50 mg/kg/0.01ml	3	3	3	2 1	3	3	3		
hisidine	50 mg/kg/0.01ml	3	3	3	3	3	3	3		
alanine	50 mg/kg/0.01ml	3	3	3	3	3	3	3		

【註】(++) (+) (-) は痙攣発作抑制効果判定法に従う

表 6 大脳総 Acetylcholine 量におよぼす Homocarnosine の影響

ep 系 マウス			症 例	CF-1 系 マウス		
キモグラフ上の濃度	大脳重量 mg	総アセチルコリン量 $\mu\text{g/g}$		キモグラフ上の濃度	大脳重量 mg	総アセチルコリン量 $\mu\text{g/g}$
注 入 し な い も の				注 入 し な い も の		
10-7/3.6	229	1.21	1	10-7/6.0	210	0.88
10-7/3.5	224	1.29	2	10-7/5.0	243	0.83
10-7/4.0	222	1.14	3	10-7/5.3	243	0.79
10-7/3.2	233	1.35	4	10-7/7.0	228	0.65
10-7/3.4	223	1.33	5	10-7/5.5	225	0.81
		1.26	平 均			0.79
注 入 後 7 日				注 入 後 7 日		
10-7/3.6	255	1.09	1	10-7/8.0	152	0.83
10-7/4.1	227	1.11	2	10-7/6.0	214	0.80
10-7/3.2	275	1.16	3	10-7/4.0	262	0.96
10-7/3.3	243	1.27	4	10-7/7.0	234	0.62
10-7/3.4	228	1.30	5	10-7/4.5	262	0.89
			6	10-7/5.0	220	0.91
		1.19	平 均			0.83

図4 大脳総 Acetylcholine 量におよぼす Homocarnosine の影響

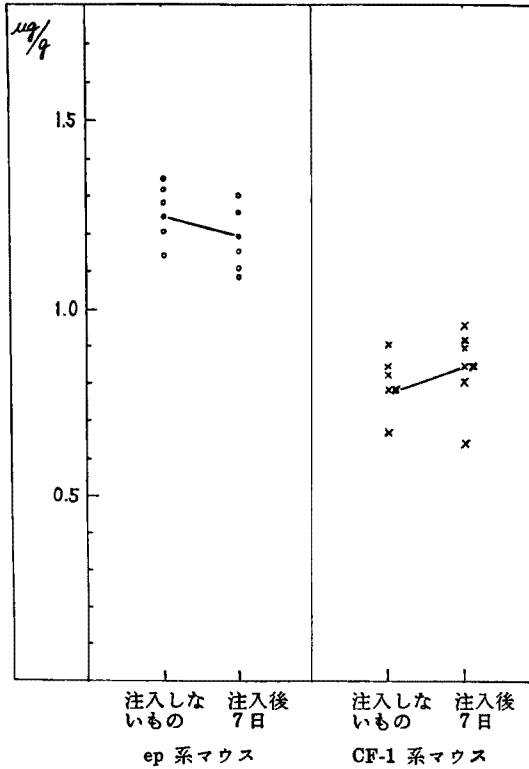


図5 大脳 Cholinesterase 活性値におよぼす Homocarnosine の影響

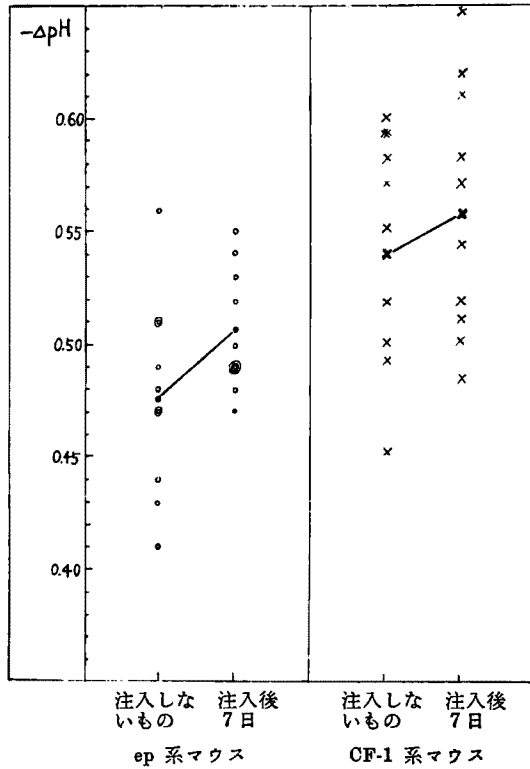


表7 大脳 Cholinesterase 活性値におよぼす Homocarnosine の影響

ep 系マウス		症例	CF-1 系マウス	
注入しないもの -ΔpH	注入後 7日 -ΔpH		注入しないもの -ΔpH	注入後 7日 -ΔpH
0.48	0.49	1	0.59	0.57
0.47	0.52	2	0.55	0.52
0.51	0.47	3	0.50	0.50
0.41	0.49	4	0.58	0.62
0.49	0.53	5	0.49	0.54
0.51	0.50	6	0.52	0.58
0.44	0.55	7	0.45	0.61
0.43	0.54	8	0.60	0.51
0.47	0.48	9	0.57	0.48
0.56	0.49	10	0.59	0.65
0.477	0.506	平均	0.538	0.558

従つて、注入後7日の値は注入前の値に比し僅かに増加の傾向がみられたが、これとても有意の差とは思われず、結局 ACh と同様ほとんど影響を受け

なかつたものと考えたい。

第4章 総括ならびに考按

Hc. は1961年 Pisano ら⁵⁾ によつて始めて牛およびラットの脳中より純粋に抽出され、正常牛脳中には 0.5~1.0 mg/100g 含まれているといわれている物質である。その体内分布は脳内のみ存在するといわれており、他臓器、たとえば腎臓・肝臓・脾臓・骨格筋らには存在しない。従つて脳内のみ存在することから何らかの脳機能に関係ある物質と考えられるが、その働きは未だ不明である。また Hc. が脳内でいかなる代謝過程を経て合成され、分解されるかについても未だ明かにされていないが、その化学構造から考えて、脳内で GABA と histidine から合成されるのではなからうかと推定される。これについては教室において ¹⁴C-GABA を用いて tracer 実験が進められている。

一方、Hc. の薬理作用についてはその1部が喜多により検討¹⁰⁾ されている。すなわち、急性の毒性はマウスの背部皮下に注入した場合の LD₅₀ は

約15g/kg で非常に毒性の少ないものである。またマウスの電気刺激による痙攣やペンタゾールによる薬物痙攣に対してはほとんど無効であり、メチルヘキサピタールによるマウス起き上り反射に対しては作用を増強する。さらに抗ACh作用はGABAの1/100程度でほとんどない等である。

さて、私はHc.の中樞神経系に対する作用を検索しようとしたが、Hc.はdipeptideであるため、blood-brain barrierの存在により血液を介しては脳に達し難いであろうと考え、直接に脳脊髄液内に投与してその影響について検討した。

まずその全身症状への影響については、未だ例数も少なく、またマウスの一般症状を十分に把握していないうらみもあるため断定はしがたいが、注入直後よりかなりの所見が得られている。すなわち、注入例全例に注入直後より約20分にわたり呼吸数・心臓数の50%増加および行動の抑制が見られ、また半数例に翌日に最も高度に体重の減少をみ、7日後には脳の軽度の浮腫性・貧血性の肉眼的変化を一部に認めている。これを対照のものと比較してみると、Ringer液、5% glucose液では注入直後の所見、体重減少、脳の肉眼的変化のいずれもHc.のそれよりも幾分軽度であつたが、やはり同様の経過をとつて表われており、反対に生理食塩水においてはHc.以上の所見が得られている。とくに注入直後の呼吸数・心臓数の増加および脳の肉眼的浮腫性・貧血性の変化においては著明であつた。この生理食塩水の注入直後の所見は生理的とはいいながら、やはりNaClそのものの刺激作用によつて起つたものであり、また浮腫性変化は脳電解質代謝に異常をきたしたために起つたと考えるべきであろう。

いずれにしても注入後の変化は頭蓋骨を通し脳膜を穿刺して注入する機械的刺激によつても起りうると考えられるが、やはり薬剤0.01ml宛注入そのものの影響(脳圧の変化)および薬剤自体の影響、とくに脳組織と薬物の濃度の差異によつて起つたものと考えべきで、その刺激性は5% glucose液、Ringer液、Hc.、生理食塩水の順に強くなつている。

次にHc.の抗痙攣作用に関しては、まずその最少有効量を判定するには、その抗痙攣作用が注入後の時間の経過とともに強くなり、ほぼ3日目以降に最大となるため、注入後4日を選ぶことにした。全例において痙攣発作が抑制された量は4~5mg/kg/0.01mlであつた。さきにPisanoら⁶⁾によつて正

常牛脳中にはHc.が0.5~1.0mg/100g含まれるといわれており、ep系マウスにもこれとほぼ同じ割合にHc.が存在するものと考えれば最少有効量はほとんど正常脳中に含まれる量と大差がないという結果を得た。

次に、抗痙攣作用の発現過程について検討してみれば、1mg/kg/0.01ml、4~5mg/kg/0.01ml、20mg/kg/0.01mlのいずれの場合も注入後6時間、12時間、1日と時間を経るに従い抗痙攣作用が漸次増強していくことに気付く。3日後になると4~5mg/kg/0.01mlおよび20mg/kg/0.01mlでは全例に完全な抗痙攣作用がみられ、以後2週間は全例にほとんど痙攣発作は発現しない。従つてHc.の抗痙攣作用は脳脊髄液内注入後より次第に増強し、3日を過ぎれば完全なものとなることが考えられる。この場合注入量が多くてもこの期間が短くならない傾向があることも興味深い。また対照の生理食塩水にもFleschの説¹⁸⁾に反し抗痙攣作用があるが、その発現はHc.のそれよりも遅く4日あるいは5日後に最も強力となり、注入後2週を過ぎればその作用は次第に弱まり消失して行く。しかし、Hc.は2ヶ月の観察期間中も依然として抗痙攣作用を持続しており、ただ23%に注入後2週を過ぎれば4日に1回の割合で痙攣発作が発現しているのみである。

これを他のHc.関連物質と比較してみるに、すでに教室の笠原⁴⁾はGABAおよびGABOBを大量経口投与してもいずれもep系マウスの痙攣発作を抑制しないことを報告している。そこで私は脳脊髄液内にGABA、GABOBさらにhistidineおよびalanineを投与してみたところやはりこれらの物質には、何らの抑制効果も認めなかつた。しかし、筋肉内に主として存し他部組織にも存在するが脳内にはほとんど存在しないといわれているcarnosineを10~20mg/kg/0.01ml注入した場合には、Hc.ほどではないが注入後3日より2週間にわたりかなりの抑制効果を認めた。しかしそれ以後はHc.の抑制効果に比して作用は弱く、注入後5週を過ぎればほぼ注入前に戻つてくるのを認めた。

従つて、Hc.の構成成分であるGABAおよびhistidineはこれを単独に使用した際には抗痙攣作用がないが、合成されてHc.となればその作用を有するという事実はまことに興味深いことである。

一方、教室の笠原⁴⁾はDiphenylhydantoinを100mg/kg量を連日経口投与すればep系マウスの痙攣発作は抑制され、投与を中止すれば再び一定期

間後発作が起ることを報告し、私も第2編において Phenobarbital を 50 mg/kg 連日経口投与した場合、Diphenylhydantoin と同様の効果が起り、中止すれば再び痙攣発作が起ることを報告した。すなわち、この両者は投与期間中には脳内の異常興奮に関連した代謝関係に抑制的に働き興奮をおさえるが、中止すればその作用も失われ再び興奮が起るものと考えられ、脳内異常興奮を起すに関連した代謝に可逆的に作用するものと想像される。これに反して Hc. は前述の如く、ただ1回の投与にも拘らず投与後2ヶ月間も異常興奮をおさえていることから、前二者と同一代謝過程に不可逆的に作用したのではないかととも想像できるが、やはり Hc. は Diphenylhydantoin および Phenobarbital とは全く異つた作用機転をとつていると考える方が妥当であろう。またこの場合にとくに強調したいことは Hc. は Diphenylhydantoin や Phenobarbital とは異り正常脳内に存在する物質であるという点である。

最後に ACh 系代謝におよぼす影響について述べよう。

Hc. を注入しない ep 系マウスの大脳総 ACh 量は対照の CF-1 系マウスのそれよりも多く約60%の高値を示しており、また大脳 ChE 活性値も ep 系マウスでは対照の CF-1 系マウスより約13%の低値を示しており、量こそ少いが加藤により報告²⁰⁾されたと同様の傾向をみている。いまこれと Hc. を注入し7日目に測定した値とを比較すれば、実験成績の項でも述べた如く、ep 系マウス、CF-1 系マウスとも ACh 量、ChE 活性値にほとんど変化をみない。ただ注入後7日目の成績だけで結論づけるわけにはいかないが、Hc. は喜多¹⁹⁾のいう如く ACh 系代謝にはほとんど影響を与えないものと推察される。すなわち、Hc. は ACh 代謝には関係なく他の抑制機構に関与しているものと考えられる。

さきに Nachmansohn により ACh の二元説²¹⁾が唱えられ、ACh は単にジナプシスの伝達の役割をもつているばかりでなく、神経や筋の興奮機制および興奮伝達機制にも主役を演じていると説かれたが、最近、この二元説はくつがえされる傾向にある。すなわち、Dale および Feldberg のいう²²⁾ ACh は運動神経終末部位で遊離し、これが端板に働き端板電位を起し、この電流が筋線維に刺激となつて興奮伝達が起るという事実は今日ほとんど認められているが、神経や筋の興奮伝達にあずかる伝達物質であるという点が反論されている。山田²³⁾は骨髄筋線

維中に細ガラス管を挿入し、これより諸物質を注入する実験をした際、ACh を注入しても筋に収縮の起らぬことを認めただけでなく、さらにこの実験で諸種の痙攣を起す物質の内に極く少量の ACh を混じておけばかえつて痙攣を起すのを妨げるという事を見出し、ACh が広く興奮組織内に存在する生理学的意義はこれら組織に対する一種の保護作用ではないかと述べている。さらに高下および菊池²⁴⁾はその保護作用は ACh が蛋白質凝固を防護する性質によるのではないかと考え、熱による卵白凝固の際に少量の ACh が存在すると卵白がなかなか凝固しないという事実を挙げている。また高下²⁵⁾は神経を高温および冷却にさらした場合、少量の ACh を加えておけば対照の刺激伝達中断時間に比較し、中断時間が短いことを見出し、ACh は温度の変化に対して神経がその働きを奪われるのを防禦しているという説を述べている。また渡辺および湯浅²⁶⁾は、諸種毒物を大黒鼠に注射しその致死量を少量の ACh を注射しながらみているが、nicotin を除いて少量の ACh が存在するときは、諸種毒物の致死量が圧倒的に増大していることを述べている。

以上の如く、最近、筋肉および神経系内に多量に存在する ACh の作用は、保護ならびに防禦作用であるという考え方が生理学者間に起つてきていることを併せ考えると、Hc. が脳組織内で ACh 系代謝と無関係に抑制効果を発揮しても必ずしも不思議ではなからう。

第5章 結 論

γ -aminobutyric acid 関連物質である Homocarnosine (γ -aminobutyryl-L-histidine) を ep 系マウスの前頭部で脳脊髄液内に注入し、次の結果を得た。

1) ep 系マウス全例に注入直後呼吸数・心臓数の増加および行動の抑制を認め、半数例に投与後1週間にわたり軽度の体重減少を認めた。

2) Homocarnosine には抗痙攣作用があり、その最少有効量は 4~5mg/kg で、正常脳実質内に含まれている量とほとんど同じである。

3) Homocarnosine の抗痙攣作用は投与後3日目には最大となり、以後2ヶ月間の観察期間中においてもその作用はほとんど弱まらない。

4) Homocarnosine の関連物質としては、Carnosine は抗痙攣作用を有するが Homocarnosine に比較すれば弱い。しかし GABA, GABOB, Histidine, Alanine には全く抗痙攣作用がない。

5) Homocarnosine は大脳総 Acetylcholine 量および大脳 Cholinesterase 活性値に対しては影響をおよぼさない。

稿を終えるにあたり御指導、御鞭撻下さり、御校閲を賜った恩師陣内教授に深い感謝の意を表するとともに、実験にあたり種々御助言、御指導をいただいた当教室の森博士に深謝する。

文

献

- 1) 今泉, 伊藤, 沓掛, 滝沢, 藤原, 土川: 実験動物, 8, 6, 1959.
- 2) Naruse, H., Kato, M., Kurokawa, M., Haba, R., and Yabe, T.: J. Neurochem., 5, 359, 1960.
- 3) Kurokawa, M., Kato, M. and Machiyama, Y.: Biochem. Biophys. Acta, 50, 385, 1961.
- 4) 笠原: 岡山医学会雑誌, 74, 567, 1962.
- 5) Pisano, J. J., Wilson, J. D., Cohen, L., Abraham, D. and Udenfriend, S.: J. Biol. Chem., 236, 499, 1961.
- 6) 森: 未発表
- 7) Fiessenger, N., Oliver, H. R. et Herbain, M.: Diagnostics biologiques et fonctionels, Maldine Paris bed.
- 8) Ammon, R.: Pflügers Arch., 233, 486, 1934.
- 9) Vorhaus, L. J., Scudamore, H. H. and Kark, R. M.: Gastroenterology, 15, 304, 1950.
- 10) Alcalde, J. M. O.: J. Lab. and Clin. Med., 36, 391, 1950.
- 11) 高橋, 柴田: 医学と生物学, 20, 96, 1951.
- 12) Chang, H. C. and Gaddum, J. H.: J. Physiol., 79, 225, 1933.
- 13) Mentzer, C. et Kaswin, A.: C. R. Soc. Biol., 123, 664, 1936.
- 14) Matthes, K.: J. Physiol., 70, 338, 1930.
- 15) Crossland, J.: Am. J. Physiol., 183, 27, 1955.
- 16) 福原: 生理学実験法各論, 316, 南山堂, 1961.
- 17) 米沢: 岡山医学会雑誌, 54, 691, 1942.
- 18) Flesch, J.: Neurol. Centralbl., 36, 434, 1917.
- 19) 喜多: 日本薬理学雑誌, 58, 1962. (第21回薬理学近畿部会 (1961. 12. 3.) に発表)
- 20) 加藤: 精神神経学雑誌, 61, 1691, 1959.
- 21) Nachmansohn, D.: Chemical mechanism of nervous action, pp 335 50 in, green, currents in Biochem. Research: New York, Interscience publishers Inc., a (74), 1946.
- 22) Feldberg, W., Vogt, M. and Dale, H. H.: Release of Acetylcholine at voluntary motor nerve endings, in Adventures in Physiology, 1953.
- 23) 山田: 条件反射, 30集, 1, 1962.
- 24) 高下, 菊池: 条件反射, 30集, 10, 1962.
- 25) 高下: 日本生理学雑誌, 24, 499, 1962.
- 26) 渡辺, 湯浅: 日本生理学雑誌, 24, 521, 1962.

Pathophysiological Study of the ep-Mouse
Part I Homocarnosine (r-Aminobutyryl-L-histidine)
Effect on the ep-Mouse.

By

Ryosuke Sugi

Department of Neurological Surgery, Okayama University Medical School
(Director: Prof. D. Jinnai M. D.)

Homocarnosine, one of the GABA associates was administered on the ep-mouse into cerebrospinal fluid through frontal region of intact scalp and skull.

1. Increased respiration and heart-beat and behavioral inhibition were observed in all cases immediately after the administration. Slight loss of body weight was followed for the first week in a half of the cases.

2. Anticonvulsive effect was obtained with the administration of homocarnosine. It is to be noted that the minimum effective dosage was 4~5 mg/kg which appears to be almost the same dosage contained in the cerebrum.

3. The anticonvulsive effect tended to be gradually accelerated by the time passing and to show the peak at the 3rd post-administration day, which was hardly varied during the following 2 month observation period.

4. Several associates of homocarnosine were examined in standpoint of anticonvulsive effect. Carnosine has also anticonvulsive effect, but less than homocarnosine. GABA, GABOB, histidine and alanine do not have such effect.

5. Homocarnosine does not cause any effect on acetylcholine and cholinesterase activity in cerebrum.
