

痙攣による Aldolase 及び Transaminase の 変動に関する実験的研究

第 2 編

痙攣による Aldolase 活性の変動について

岡山大学医学部第 1 外科教室 (指導: 陣内傳之助教授)

小 田 皓 二

〔昭和 36 年 3 月 31 日受稿〕

第 1 章 緒 言

1943年 Warburg, Christian¹⁾ が担腫瘍動物の血中に Zymohexase (Aldolase + Isomerase) が増加していることを認めて以来, ALD は臨床的にも注目されるようになり, 腫瘍のみならず進行性萎縮症²⁾³⁾⁴⁾, 心筋梗塞⁵⁾⁶⁾⁷⁾, 急性肝炎⁸⁾⁹⁾ などにおいても著明にその血中濃度が上昇することが明らかにされてきた。また測定法もしいに改良せられ, 生体内各組織の分布も現在ほぼ明らかにされている。酵素が血中に増加する機転については, 一般におお充分解明されておらず不明の点が多い。これについては細胞内における酵素産生の増大, 細胞酵素の血流中への遊離, あるいは細胞の酵素分泌の増加, 胆道および腎からの酵素排泄の障害, その他血流外への脱出過程の障害等があげられる。ALD については組織の広汎な変性, 壊死が起つた場合, 組織細胞の ALD が細胞内から血中に流出するということが基本として考えられている¹⁰⁾¹¹⁾。

neurology の領域において Schapira, Dryfus²⁾ は筋萎縮のある患者の血清 ALD 活性の著明な増加を明らかにし, Aronson, Folk⁵⁾ も神経筋疾患における血清 ALD 活性の測定を行なっている。これによると進行性筋萎縮症では90%以上に著明な上昇を認めるが, 多発性硬化症, パーキンソン, 中枢神経系疾患, 錐体路障害等上位 neuron の障害や非神経性の筋萎縮では増量をみていない。杉田等⁴⁾ もほぼ同様の結果を報告している。

Sibley, Fleischer¹¹⁾ によると中枢神経系の疾患として, 急性アルコール中毒に ALD の増量をみる外はてんかん, パーキンソン病, 分裂病等では増量はみられないという。

以上の外には neurology の領域における ALD に関する報告は見当らず, また痙攣と ALD の関係に注目した文献は全く見当たらない現状である。痙攣という異常病態においてこれが glucose を energy 源とする以上, 解糖系の member である本酵素が何らかの意義を有するであろうとは当然考えられるところである。

私は以下にのべるように, 家兎を用いて実験的に痙攣を誘発し, 血清 ALD 活性の変動を追及した。そしてさらにこの血清 ALD 変動の原因を究明するため組織の ALD の測定を行なつた。この際痙攣終了15分後の筋肉および脳 ALD 活性を測定したのは, カルチアゾールによる誘発痙攣の場合, この時期に血清 ALD 活性が最高に達することが判明したからである。すなわち痙攣により血中に増加した ALD が痙攣に関与する組織である筋肉, 脳のうちのいずれに由来するものかにつき検討を加えた。なおまたこの血清 ALD の増量は, 痙攣による筋運動を抑制した場合にも起るものか否かをみるために succinyl choline chloride (SCC と略記す) を用いて筋弛緩を起させ, この際の血清 ALD 活性の消長をも併せて検討していきさか知見をえたので本編にのべることとする。

第 2 章 実験方法

1. 実験動物

実験動物は体重約 2.5 kg 前後の成熟家兎を用いた。

2. ALD 活性の測定法

酵素液の作成法および ALD 活性の測定は第 1 編にのべたように, Sibley, Lehninger の Bruns 変法¹²⁾ によつた。

3. 痙攣誘発による血清 ALD の変動

痙攣誘発にはカルデアゾール（以下カと略記す）注射法によつた。家兎を仰臥位に固定し股静脈を露出し、乾燥冷却せる注射器によりまづ 2 cc 採血する。ついで 3.3%カを注射して完全に痙攣を起させ、痙攣終了直後、15分後、30分後、45分後、90分後とそれぞれ同様に採血し検査に供した。なお痙攣を起させるに要したカ量をもつて痙攣閾値とした。

4. 重積痙攣による血清 ALD の変動

重積痙攣誘発法としては富永¹³⁾によつて発表された Hexogen (cyclotrimethylene trinitramine) 投与方法に従つた。すなわち Hexogen を家兎を絶食せしめた後胃ゾンデを用いて内服させた。使用量に関しては友沢¹⁴⁾に従い 0.37 g/kg を投与した。重積痙攣を起した家兎について、投与前、初回痙攣直後、重積痙攣経過中、痙攣終了後についてそれぞれ採血し、血清 ALD の測定を行なつた。

5. カ誘発痙攣時の脳および筋 ALD 活性の変動

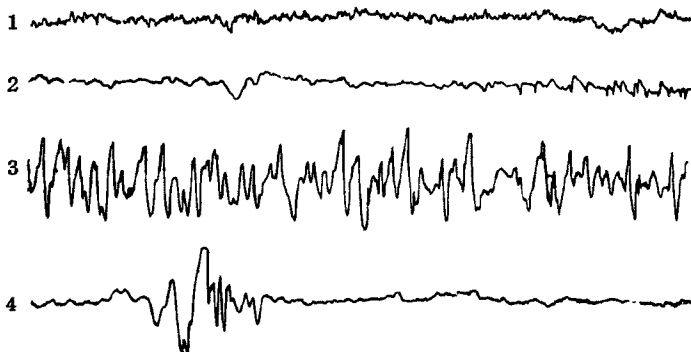
痙攣誘発に先立ち、家兎を腹臥位に固定し、両側前頭部に小孔をうがち、前頭葉の一部を露出する。まづ一側より 300~500 mg の大脳皮質の小片を採取し、ついで腓腸筋よりほぼ同量の筋肉を採取する。その後耳静脈よりカを注射して痙攣を誘発し、15分後に再び同様の操作により、他側より大脳皮質および筋肉片を採取する。これらの組織より酵素液を作成し、組織の ALD の測定を行なつた。

6. SCC 静注後のカ痙攣時血清 ALD 活性の変動

SCC 静注後は呼吸停止をきたすので、あらかじめ気管切開を行ないビニール管を挿入する。この際筋肉が弛緩してカ誘発痙攣発現の時期が不明であるので、この時期を脳波で観察することとした（第1図）。

第1図 筋弛緩時のカ痙攣家兎の脳波

1 安静時, 2 SCC注射後, 3 痙攣時, 4 痙攣終了



すなわち家兎を腹臥位に固定し、左右の前頭部、後頭部に計4ヶの小孔をうがち脳硬膜に達し電極を挿入して脳波を誘導した。まず安静時採血 2 cc を行ない、SCC g を静注し、完全な筋弛緩をえた後再び採血 2 cc を行う。この時呼吸が停止するので気管内にカニューレを挿入して人工呼吸を開始する。ついでカを静注し、痙攣による異常波の消失直後、さらに15分後と前後4回採血して実験に供した。

第3章 実験成績

1. カ痙攣誘発による血清 ALD 活性の変動

正常家兎の血清 ALD 活性は第1表に示すように、

第1表 カ誘発痙攣による血清 ALD 活性の変動 (U/ml)

	痙攣前	直後	15分後	30分後	45分後	60分後	90分後
No. 1	71	110	129	187	131	70	68
No. 2	68	82	87	83	59	58	49
No. 3	54	62	71	70	51	56	55
No. 4	49	84	104	72	67	63	59
No. 5	28	54	71	67	44	40	29
平均	50	79	96	98	77	60	52

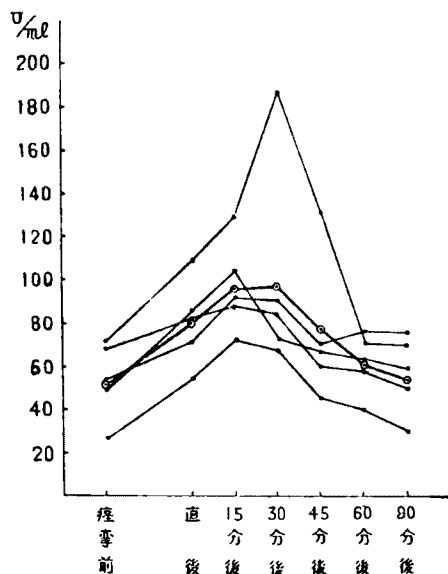
28~71 U/ml, 平均 50 U/ml とかなり個体差を認めた。カ痙攣後の血清 ALD の変動をみるに、第2図のごとく、痙攣直後より全例に著明な上昇をきたし、15分後ではほぼ最高に達し、その後は漸減して60分後ではほぼ痙攣前の値に復帰した。痙攣前に比し最高値平均は 98 U/ml で増加率は160%~310%と上昇し、平均約2倍に達している。この際の痙攣閾値は 0.6~1.1 cc であり、増加率と痙攣閾値との間の相関関係は認められない。なお最も著しい増加を示した1例は痙攣の持続ならびに程度ともに最も強度であつた。痙攣前の ALD 活性の上昇をみるに、痙攣前高値を示すものは各測定時とも高値を示す例が多く、ほぼ平行して増加する傾向にあり、上昇率においては顕著な差は認められない。

2. Hexogen による重積痙攣家兎血清の ALD 活性の変動

Hexogen 投与による重積痙攣家兎血清の ALD 活性の変動

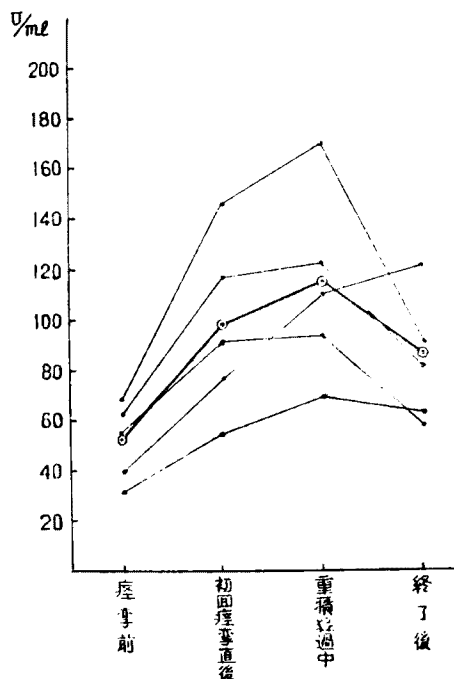
Hexogen 投与による重積痙攣家兎では内服後 4~12時間で強

第2図 カ誘発痙攣による血清ALD活性の変動



直性、ついで間代性的痙攣発作が出現し、3~5分の持続時間で休止期に入り、15分~2時間の間隔で数回ないし十数回の痙攣が重積して発現した。痙攣の発現時期、重積痙攣の頻度、間隔、程度はかなり区々であつた。すなわち第3図、第2表のごとく、

第3図 重積痙攣による血清ALD活性の変動



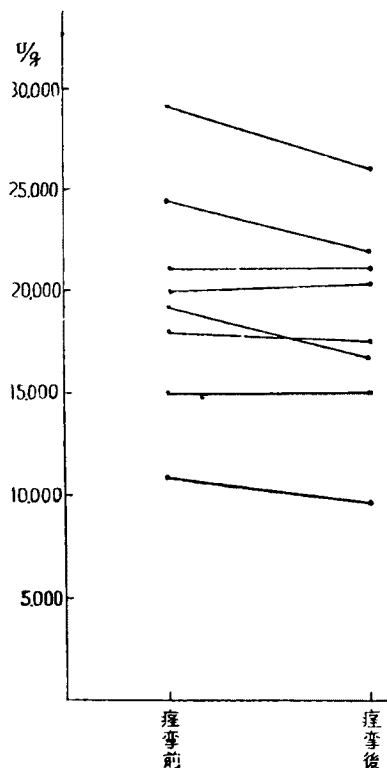
第2表 重積痙攣による血清ALD活性の変動 (U/ml)

	痙攣前	初回痙攣直後	重積経過中	終了後
No. 1	69	146	170	89
No. 2	63	117	121	81
No. 3	55	82	84	56
No. 4	40	76	109	120
No. 5	32	55	68	62
平均	52	97	112	85

初回痙攣直後の血清ALD活性はカ痙攣時の場合と同様著明に上昇し、平均1.7倍に達した。重積痙攣経過中をみるに、初回痙攣後に比してさらに上昇するが、痙攣の程度の著しい例ほど高く、かつ発作間隔の短い例ほど上昇の傾向も強かつた。15~20分の間隔で頻回にわたり痙攣を重積し、重積死に至つた1例では、重積経過中に著しい高値を示し、この値は重積死直前まで持続した。

3. カ痙攣誘発時の脳および筋ALD活性の変動
痙攣前の筋および脳ALD活性についてみるに、第4図、第5図の如く、筋ALDは脳におけるより

第4図 カ痙攣による筋ALD活性の変動



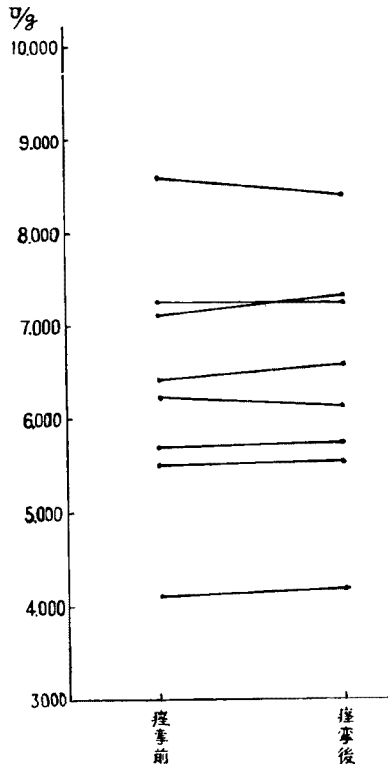
第3表 カ痙攣による筋 ALD 活性の変動 (U/g)

	痙攣前	痙攣後
No. 1	29,100	26,300
No. 2	24,600	21,900
No. 3	21,100	21,200
No. 4	19,900	20,300
No. 5	19,200	16,800
No. 6	18,000	17,500
No. 7	15,000	15,200
No. 8	10,900	9,900

第4表 カ痙攣による脳 ALD 活性の変動 (U/g)

	痙攣前	痙攣後
No. 1	8,600	8,450
No. 2	7,220	7,190
No. 3	7,050	7,140
No. 4	6,210	6,280
No. 5	6,210	6,040
No. 6	5,730	5,770
No. 7	5,500	5,560
No. 8	4,130	4,190

第5図 カ痙攣による脳 ALD 活性の変動

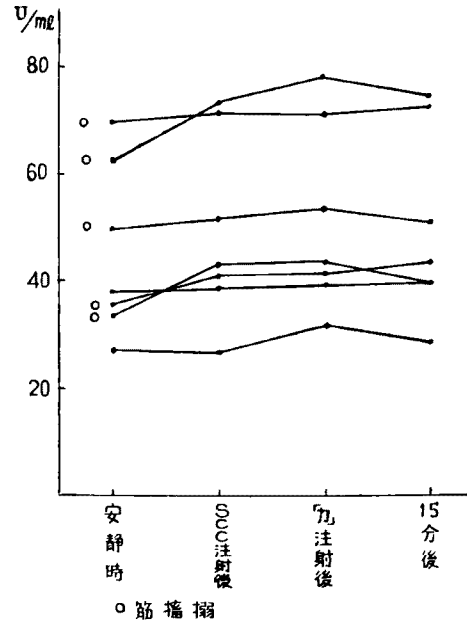


も遙かに高い活性値を示し、平均 19,700 U/g であり、脳の ALD と同様に個々の例においてかなり変動を示した。血清 ALD 活性が最高に達する痙攣終了後15分で測定するに、筋 ALD では8例中の5例に軽度の減少が認められ、その減少率は平均 8% であつた。脳 ALD では8例中3例に減少が認められるが、逆に増加した例もみられ、総体的には減少の傾向を認めることができなかった。

4. SCC 静注後のカ痙攣時血清 ALD 活性の変動

SCC 静注群についてみるに、第6図、第5表のごとく、SCC 静注後は筋弛緩に先立ち7例のうち一過性の筋搐搦を認めた4例では軽度の上昇をみた。しかるに筋搐搦のみられなかつた例ではほとんど変

第6図 SCO静注後のカ痙攣による血清 ALD 活性の変動



第5表 SCC 静注後のカ痙攣による血清 ALD 活性の変動 (U/ml)

	安静時	SCC 注後	カ注射後	15分後
No. 1	70	71	71	73
No. 2	63	72	78	75
No. 3	50	52	53	51
No. 4	38	39	39	40
No. 5	35	41	41	43
No. 6	34	43	43	40
No. 7	27	27	32	29

動を認めなかつた。カ注射により増加したものの4例、減少したものの3例とほぼ相半ばしており、著しい変動をみたものはなかつた。

15分後の採血時では安静時とほとんど変化はみられず、筋搐弱により血清 ALD の上昇をみた例でも、この時期には大体安静時のレベルに復帰している。すなわち SCC により筋運動を抑制して痙攣を誘発した場合は、一過性にわずかながら上昇する例もあるが、これは一過性の筋搐弱をみた例であつて、筋搐弱をきたさなかつたもの、すなわち十分に筋弛緩をえた例では血清 ALD 活性の変動は認められないという結果をえた。

第4章 考 按

Warburg, Christian¹⁾が担腫瘍動物では血清 ALD 活性の上昇がみられることを発表して以来、実験的にも臨床的にも各分野に ALD に関する多くの発表がなされている。しかしながらすでにのべた如く、痙攣と ALD の関係に注目した研究は見当らない。酵素が血中に増加する機序については、一般になお不明の点が多いが、ALD については広汎な組織の変性、壊死が起つた場合に、組織細胞中の ALD が細胞内から血中に流出するというのが基本として考えられている。

私共誘発痙攣において、痙攣前に比し血清 ALD 活性が著明に増加する事実を初めて明らかにした。すなわち痙攣誘発とともに血清 ALD は血中に増加し、約15分で最高に達し、その後は次第に減少し約1時間で痙攣前のレベルに復帰する。この際血清 ALD の変化は痙攣の程度の強い例ほど上昇もまた著しい。

重症痙攣穿兎についても同様の上昇をきたし、発作の程度の著しい例ほど高値を示し、かつ発作間隔の短かい例ほど上昇する傾向を認めている。しかし血清 ALD の上昇はいずれも一過性で、痙攣の終了とともにかなり速やかに痙攣前のレベルに復している。すなわち一度上昇した ALD 活性もその原因となるべき条件、すなわち痙攣がなくなれば速やかに正常に復帰するものといえる。この事実は血清 ALD は組織の ALD の血中放出と消失の動的平衡の状態にあることを想像させるものである。

誘発痙攣による血清 ALD 上昇の機序について考えるに、痙攣に関与する脳および筋の組織細胞に急激な乏血状態がおこり、これにより細胞膜透過性の異常をきたし、ALD が血中に増加することが考え

られる。ここで血清 ALD が著明に増加している進行性筋萎縮症や心筋梗塞等に共通する因子として、急激な乏血も広汎な細胞の破壊が原因としてあげられている。これらの疾患にあつては、例えば心筋梗塞にあつては、梗塞に陥つた筋 ALD 活性は健康な心筋のそれに比してかなり低下しているという。

この事実より推論するに組織の破壊とは本質的に異なるが、痙攣に関与する組織組織に急激な乏血状態がおこり、これらの組織より ALD が血中に放出されることは当然考えられることである。ALD の体内における分布よりみて最も考えられることは、とくに多量に存在する筋肉よりの径路である。一方脳内における痙攣による変化の結果おこる ALD の変動についても考慮に入れるべきであろう。すなわち脳は energy 源として専ら glucose を利用していることが知られている。ALD は解糖にさいして不可欠の酵素であるため、痙攣に伴う急激な energy の変化により ALD 活性も何らかの変動をきたすものと思われる。これらの点を解明するため痙攣時の脳および筋の ALD の測定を行なつたものである。しかるに実験成績に示す如く、痙攣により脳内の ALD 活性はほとんど変動を認めることができなかった。

一方筋 ALD は8例中5例にわずかながら活性値の低下を示している。すなわち痙攣に際して血清 ALD は著明に増量するに反し筋 ALD 活性の低下は軽度である。このことは筋 300 mg の ALD は全血液中の ALD 量に匹敵するという両者の ALD 量の差を比較すれば容易に肯けることであろう。

他方脳内の ALD は痙攣により活性値の変動がみられなかつたが、これは筋内の場合と異なり痙攣に際して脳の内部では複雑な生化学的変化が考えられ、活発な変動を伴わないものと解せられる。このことが痙攣時における脳と筋の ALD の態度の異なる原因と考えられる。すなわち痙攣による筋 ALD 活性の低下と血清 ALD 活性の上昇とは、痙攣による筋の機械的な攣縮によつて血中に流出してゆくのではないかと考えられる。

従つてこの点を解明するために、SCC によつて痙攣の際におこる筋の攣縮を抑制した場合、果して血清 ALD 活性は如何に変動するかを検討することとした。筋攣縮の抑制法として頸髄切離により筋えの興奮伝導路を遮断する方法もあるが¹⁰⁾、この法では顔面および副神経支配下筋群の弛緩はえられない。SCC は全身の筋肉の神経筋接合部に作用して神経伝

導を遮断し、全身の筋弛緩をもたらしものであるから¹⁶⁾ この方法を採用した。

その細果筋攣弱をみた例では軽度の血清 ALD 活性の上昇を認めたが、筋弛緩を抑制しえた例では全く上昇がみられなかつた。このことは筋攣縮を伴わない痙攣では血清 ALD は上昇しないといえる。すなわち痙攣に伴う脳の生化学的变化のみでは血清 ALD の変動は起らず、或いは起つたとしてもごく軽度で、ほとんどは筋攣縮に由来して機械的に筋より血中に流出されて、血清 ALD 活性の上昇がおこるものと考えざるを得ない。

しかしながらこのような誘発痙攣による血清 ALD 活性の上昇は、進行性筋萎縮症、心筋梗塞、急性肝炎等に比較して上昇の程度が遙かに軽度である。これらの疾患においては数倍ないしは十数倍にも達する著明な上昇が認められ、しかもある程度病変の強弱に比例して増加するという。また Aronson³⁾、Schapira²⁾ によれば筋萎縮症では筋 ALD 活性は血清 ALD とは逆に著明に減少し 1/5~1/15 にまで低下するという。痙攣においては血清 ALD 活性の増加する際、筋 ALD 活性は軽度に減少するが著明な低下は認められない。このように病的疾患の場合に比して痙攣時の血清 ALD の上昇が少ないのは何故かと考えるに、変性壊死は進行性病変であるのに対して、痙攣は一過性の変化であるためであろうと思われる。

また先に誘発痙攣の際の血清 ALD 活性の上昇は筋 ALD に由来するとのべたが、しからは脳 ALD は全くこれに関与しないかというに必ずしもそうだと断言できないであろう。何故なら痙攣によつ

て脳 ALD 活性は一時変動したのかも知れないが、血清 ALD 活性は常に一定範囲内の動的平衡を保たんとしているものであるから、直ちに血液中から脳組織内に、或いはまたこの逆の径路により測定時にはすでに旧に復していたのかも知れない。

ALD 供給源としては細胞膜の透過性の異常に伴う ALD efflux が主であると、Zieler¹⁷⁾¹⁸⁾ ものべているが、細胞膜異常、あるいは細胞内の ALD が果していつでも流出可能な状態にあるものか等の点については不明の点が多い。しかし痙攣による一過性の血清 ALD 活性の増量はやはり筋 ALD の血中への放出であると考えるのが最も妥当であろう。

第5章 結 論

1) カ誘発痙攣家兎の血清 ALD 活性は一過性に著明に増加し約2倍に達する。重積痙攣家兎でも同様に著明に増加する。

2) カ誘発痙攣時脳 ALD は変動なく、筋 ALD はやや減少する。

3) SCC を用い痙攣による筋攣縮を抑制してのち痙攣を誘発せしめると、血清 ALD 活性の変動は起らない。

4) 以上の結果から実験的痙攣時の血清 ALD 活性の上昇は筋 ALD に由来するものと考えられる。

稿を終るにあたり御指導、御校閲を賜わつた恩師陣内教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、教室森昭胤博士の御助言を謝す。

文 献

- 1) O, Warbuug. W, Christian : Biochem Z. 314, 399. 1934.
- 2) G, Schaira, J, Dreyfus : Am. J. Cphys. med. 35, 313. 1955.
- 3) S, Aronson. B, Volk : Am. J. med 22, 416. 1957.
- 4) 杉田他 : 最新医学. 13, 213. 昭33.
- 5) B, Volk. L, Losner. S, Aronson : Am. J. med Sc. 38, 232. 1956.
- 6) 田坂他 : 日循会誌 22, 266. 昭33.
- 7) 吉利 : 医学のあきみ 26, 756 昭33.
- 8) F, Bruns. W, Puls : Klin. Wschr 32, 656. 1954.
- 9) F, Bruns. J, Neuhaus : Arch. Biochem 55, 588. 1955.
- 10) G, Sihley. L, hehninger : J. Nat. Cancer. Inst. 9, 303. 1953.
- 11) G, Sihley G, Fleisher : Proc Staff meet mayo Clin 29, 591. 1954.
- 12) F, Bruns : Biochem. Zschri 325, 156. 1954.
- 13) 富永 : 第50回精神神経学会 1953.
- 14) 友沢 : 岡山医誌 68, 635. 昭31.
- 15) 荒木 : 精神神経会誌 53. 10. 1951.
- 16) 村山 : 臨床麻酔学 昭33.
- 17) K, Zieler : Am. J. Physiol 135, 283. 1958.
- 18) K, Zieler : Am. J. Physiol 193, 534. 1958.

Experimental studies on aldolase and transaminase activities in rabbits with convulsion

Part II. On serum aldolase activity after convulsion

By

Koji Oda, M. D.

First Dept of Surgery, Okayama University, Medical School
(Director: Prof. Dr. D. Jinnai)

1. Serum aldolase activity markedly increased after convulsion caused by metrazol injection, about twice of the preconvulsive level, and recovered to the normal level after 1 hour.
 2. Same results were observed in the repetitive convulsion caused by hexogen administration.
 3. During convulsion, brain aldolase activity did not change, muscle aldolase activities were slightly decreased.
 4. In such cases succinyl choline chloride was injected into the rabbits no acceleration was observed in the serum aldolase activity.
 5. Therefore, the acceleration of serum aldolase activity in the experimental convulsion was due to the muscle aldolase in such a condition.
-