

重積痙攣家兎脳髓のグルタミン酸に関する実験的研究

第 1 編

重積痙攣家兎脳髓における遊離アミノ窒素及び
グルタミン酸の変動について

(本研究は文部省科学研究費の補助による)

岡山大学医学部第1(陣内)外科教室(指導:陣内教授)

副 手 友 沢 久 雄

〔昭和31年4月5日受稿〕

目 次

第1章 緒言並びに文献

第2章 実験方法

第1節 実験材料

第1項 実験動物

第2項 重積痙攣惹起方法

第2節 測定方法

第1項 遊離アミノ窒素測定法

第2項 グルタミン酸測定法

第3章 実験成績

第1節 遊離アミノ窒素変動値

第1項 正常家兎脳髓

第2項 重積痙攣中の家兎脳髓

第3項 重積痙攣経過後の家兎脳髓

第4項 小 括

第2節 グルタミン酸変動値

第1項 正常家兎脳髓

第2項 重積痙攣中の家兎脳髓

第3項 重積痙攣経過後の家兎脳髓

第4項 小 括

第4章 総括並びに考按

第5章 結 論

第1章 緒言並びに文献

癲癇の本態に関しては古くより多方面に互つて数多の研究がなされ、これに関する研究報告は枚挙に遑なき状態である。近年にいたつては生化学的研究と脳波に関する研究がとくに顕著であつて、幾多の業績が発表されている。

生化学的見地からは、痙攣発現の要因として、

- 1) 水分代謝異常¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
- 2) 酸塩基平衡の異常⁴⁾⁵⁾
- 3) Mg, Ca, K, その他のイオン濃度の変化³⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾
- 4) 血液又は組織内酵素系の異常⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾
- 5) 低血糖¹²⁾¹³⁾

6) 痙攣毒¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾7) 内分泌異常¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾8) 脳組織呼吸及び解糖の異常²⁰⁾²¹⁾²²⁾9) グルタミン酸代謝障碍¹⁵⁾²³⁾²⁴⁾

等が挙げられている。

1935年 Krebs²⁵⁾が脳の切片を用いて、グルタミン酸とアンモニアよりグルタミンが合成されることを発表して以来、脳におけるグルタミン酸代謝について多くの研究がなされてきた。即ち Price 等²⁶⁾がグルタミン酸は脳において新陳代謝に関与する唯一のアミノ酸であり、又脳髓において分解される唯一のアミノ酸であることを発表し、又 Weil-Malherbe²³⁾は脳アミノカルボキシル窒素の40~80%がグルタミン酸とそのアミドであり、脳におけるグルタミン酸の濃度は Pankreas

を除く他の組織より大であり、神経組織ではグルタミンの合成が行われ、グルタミン酸及びグルタミンは酸化及び酪酸形成にいちじるしい役割をはたすと述べている。

グルタミン酸は Acetylcholine を合成する脳組織中の Cholineacetylase の作用を促進し²⁷⁾²⁸⁾、又抗痙攣剤である Phenobarbital, Barbital 及び Aleviatin は 10^{-4} ~ 10^{-6} M. L. の低濃度では in vitro においてグルタミン酸脱水素酵素に対し明らかに促進的に働き、又グルタミン酸代謝に関係のある焦性葡萄糖酸化系, Acetylcholine 合成系を促進し、又高濃度では抑制する²⁹⁾といわれている。

グルタミン酸と痙攣との関係については、林及びその門下³⁰⁾³¹⁾³²⁾は Dusser de Barrene³³⁾のいわゆる Strychnization と同じ方法で、グルタミン酸塩及びアスパラギン酸塩を皮質又は核に注射して痙攣発作の発現することを証明している。又頸動脈注射により痙攣が惹起し、頸静脈注射によつては発現せぬことより、グルタミン酸の大量は刺激的に、少量は抑制的に働くのであらうと述べている。

Waelsch²⁶⁾³⁴⁾はグルタミン酸の経口的投与は、精神神経疾患に対しある種の薬理的効果を呈し、小発作は著明に抑制されると述べている。宗本²⁴⁾はグルタミン酸のこの作用は、脳においてアンモニア発生を抑制するためであるとし、Sapirstein³⁵⁾はグルタミン酸がアンモニアと結合するためであると述べている。

以上の事より、Weil-Malherbe²³⁾はグルタミン酸代謝の異常もまた、癲癇発作の機序を解明するのに役立つものであると綜説している。中教授²⁶⁾も癲癇症の本態は、脳髄における呼吸抑制機転の欠乏であると考え、その呼吸に関係するグルタミン酸やアンモニアと癲癇との間に密接な関係があると述べている。

かくのごとく脳髄におけるアミノ酸代謝と癲癇又は痙攣との間に、何らかの関連があることは明らかであつて、当教室ではこの数年來この問題に関し次の如き一連の研究が行われた。

すなわち井上³⁷⁾は真性癲癇症において遊離アミノ窒素が正常に比較して減少しており、その大部分がグルタミン酸であることを証明し、高木³⁸⁾は痙攣時犬脳髄各部の遊離アミノ窒素の減少を証明している。又畠山³⁹⁾は脳局所アナフィラキシー家兎脳においても同様であることを述べている。

そこで私は Hexogen 投与により発現せしめた重積痙攣状態にある家兎脳髄において、遊離アミノ窒素及びグルタミン酸がどのような変動を示すかをまず知ろうとして本研究を試みた。

第2章 実験方法

第1節 実験材料

第1項 実験動物

同一飼料で1週間以上飼育した体重2 ㍑前後の成熟白色家兎を使用した。

第2項 重積痙攣惹起方法

1) 痙攣誘発法としては従来電気刺戟法、Insulin 注射法、Strychnin 注射法、Cardiazol 注射法、Methioninsulfoximine 投与法等数多くの方法が用いられて来た。

私は富永⁴⁰⁾が先に発表した Hexogen (Cyclo-trimethylen-trinitramine) 投与法が重積痙攣誘発法として最も自然発作に近いと考えられるので、これを用いることとした。即ち同氏は誤つて小麦粉と混じ摂取した人に、著明な重積痙攣が発現し、その痙攣状態は癲癇痙攣と全く同様で、発作終了後は何ら障害を残さなかつたと述べている。

私は Hexogen を卵の花と混じ家兎に投与したところ、内服後4~20時間で強直性、次で間代性の痙攣発作が発現し、持続時間は3~5分で休止期に入り、15分~3時間の間隔で数回~10数回の痙攣が起ることを認めた。

2) 重積痙攣を発現するに要する Hexogen の量は第1表に示す如くで、おおむね当厩0.37瓦の投与で痙攣が発現し死亡例も最も少いことを認めた。

そこで私は Hexogen 量を各家兎に当厩0.37瓦投与し、重積痙攣を起した家兎について実

(第1表)

体重 kg	Hexogen 量 g/kg	痙攣の有無	転帰
1.5	0.25	(-)	生
2.2	0.3	(-)	3日後死
1.7	0.3	(-)	生
2.0	0.35	(-)	3日後死
1.8	0.35	(+)	重積死
2.0	0.4	(+)	重積死
2.0	0.37	(+)	生
1.8	0.37	(+)	生
1.8	0.37	(+)	重積死
2.0	0.37	(+)	生
2.1	0.37	(+)	生
1.7	0.5	(-)	生
1.7	0.8	(+)	重積死

験を行つた。

第2節 測定方法

第1項 遊離アミノ窒素測定法

開頭後速かに大脳を一塊として取り出し、硬脳膜、凝血を除き、硫酸酸性アルコールと共に蓋付瓶中に入れ、72時間氷室内に保存する。本操作は後述の脱脂、及び除蛋白を容易にするためである。

72時間目にこれを取り出し、濾紙上にてアルコールを払拭し、倍量の石油エーテル（沸点 40°C 以下）と混和、磨碎し24時間室温に放置する。浸漬したアルコールを棄てたのはニシヒドリン反応により、その中にアミノ酸が溶出してないことを確めたからである。

24時間後遠心沈澱（15分間3000回転）を行い、上澄液を棄て新たに石油エーテルを加える。この操作を3回行い脱脂を終る。

次で蒸溜水を2倍量加え、40°C 1時間重湯煎中にて攪拌しつつ抽出を行い、無灰濾紙にて濾過し濾液の量を計る。

濾液 5cc をコルベンに入れ、0.6% KH_2PO_4 5cc 及び 10% Squibb 氏 Urease 溶液 0.1cc を加え、20°C 又はそれ以上の室温に 30分間放置する。これによつて濾液中の尿素は破壊される。

ついで Folin-Wu 氏変法により除蛋白を行う。すなわち濾液 1 容に $\text{N}/12 \text{H}_2\text{SO}_4$ 8 容を

加えて混和し、次で 10g/dl のタングステン酸ソーダ 1 容を添加し、充分振盪混和し暫時静置し無灰濾紙にて濾過する。

濾液を Erlenmeyer 氏コルベンに入れ、水酸化マグネシウム浮遊液数滴を加え 5~10分間煮沸し、容積を半減せしめ氷醋酸を滴下し、液が酸性となり、水酸化マグネシウムを溶解するにいたらしめる。Erlenmeyer 氏コルベンは少量の蒸溜水で洗い初めの容積とし、遊離アミノ窒素の定量には 1cc を用いる。

盲験には 10% Urease 液 1cc を 10cc のメスコルベンに入れ、之に 10% タングステン酸ソーダ及び $2/3 \text{N-H}_2\text{SO}_4$ を各 0.5cc 宛加え、10cc まで蒸溜水にて稀釈振盪し 30分間放置し、蛋白質を絮析濾過し、濾液 1cc を本実験の Urease 量と同量になる様に稀釈し、盲験を行つた。

定量は Van-Slyke⁴¹⁾ のガス検圧法により行つた。即ち藤井⁴²⁾、赤堀⁴³⁾、藤田⁴⁴⁾の記載にもとずき、Van-Slyke & Neil の装置を用い、抽出室は 50cc のものを使用した。

試薬 1) 亜硝酸ソーダ液。

NaNO_2 800g を 1 liter の水に加温溶解する。

2) 氷醋酸。

3) アルカリ性過マンガン酸カリ液。
50g の KMnO_4 を 1 liter の 10% NaOH に飽和せしめる。毎回新たに作り使用前室温にて空気に飽和せしめる。

4) カプリールアルコール。

濾液 1cc, 蒸溜水 4cc, 氷醋酸 1cc を抽出室に入れ、カプリールアルコール 1 滴を加えて泡沫の発生を防ぐ。抽出室を真空にして 1分間 200~300回の速度で 2分間振盪する。

次で抽出された空気を除き、2cc の亜硝酸ソーダ液を抽出室に入れると、 N_2 ガス及び NO ガスが発生する。水銀面を抽出室の 50cc の目盛のすぐ上までさげ一定時間放置する。次で N_2 ガスの発生を完全にするために 1分間振盪する。

発生したガスを Hempel pipette に移し、

pipette 内のアルカリ性過マンガン酸カリ液にて NO ガスを吸収せしめ、N₂ ガスのみを抽出室に返してガス圧を測定する。

濾液の代りに Urease 液を用いて全く同様の操作にて盲験を行い実験値を補正する。

本実験にさきだちグリシン0.1瓦を50ccの蒸留水に溶解し、本法により定量して計算値(0.7466mg)と一致することを確認した。

第2項 グルタミン酸測定法

グルタミン酸は構造的に特徴が少く、又安定でないので中枢神経系から標本を採取する際、実験動物を液体空気中にて凍結せしめることが望ましいが、液体空気の入手が困難なため、私は家兎脳髄皮質切除後、直ちにドライアイス、アセトン冷剤中に投入して凍結した。

定量法は奥貫⁴⁵⁾、O. Schales⁴⁶⁾の方法に従い、グルタミン酸脱炭酸酵素を用い、Warburg 氏検圧計を使用した。

1) グルタミン酸脱炭酸酵素調製法

南瓜の果皮を摺りつぶし、等量の磷酸緩衝液(0.1M, pH5.8)を加え、ガーゼでしぼつて得た果汁を遠心分離して、上澄液に硫酸アンモニアを半飽和になるように加えて1時間放置し、遠沈分離した沈渣を乾燥し、冷処においた減圧乾燥器中に保存する。

使用に際し1回毎に活性を検査し、実験値を補正した。

2) 試料作製法

大脳皮質切除後直ちにドライアイス、アセトン冷剤中に投入、凍結せしめ粉碎し重量測定後0°Cにて2倍量のN/10 HClを入れ30分間抽出する。次で遠心分離(3000回転、15分間)せしめ、上澄液をN/10 NaOHにてpH 5.6に補正し、その0.5ccを検圧計容器の第1側室に入れる。

3) 分析実施法

全操作とも Warburg 氏検圧計を用い37°Cで反応せしめる。反応容器は2個の側室を有するものを使用し、主室に2ccの酵素溶液(約10mgの酵素をpH 5.8, 0.1 Mの磷酸緩衝液にとかす)を入れ、第1側室に試料(pH

5.6に調製したものを0.5cc入れ、第2側室には1.2 N 硫酸0.5ccを入れる。酵素の盲験を行うためには、試料の代りに0.5ccの蒸留水を入れる。

マンメーターに連絡した容器は37°Cの恒温槽に浸漬して10分間振盪し、温度が平衡に達したならば検圧計の読みを取り、第1側室の試料を主室に入れる。直ちにCO₂の遊離が始まり約15~20分で完了する。念のため15~20分間振盪を継続し、平衡状態に達したことを確かめ、第2側室の1.2 N 硫酸を主室に入れ、約10分間振盪した後、読みをとり定量をおわる。

1mgのグルタミン酸は152.3 MlのCO₂に相当するから、試料中のグルタミン酸含有量は簡単に計算できる。

酵素の活性度は Merck 製精製グルタミン酸を用いて、実験の度に測定し実験値を補正した。

第3章 実験成績

以上の方法により、重積痙攣を起さしめた家兎の痙攣中及び痙攣終了後20~24時間をへて、脳髄中の遊離アミノ窒素及び大脳皮質内グルタミン酸量を測定し、対照たる正常家兎のそれと比較した。

第1節 遊離アミノ窒素変動値

第1項 正常家兎脳髄

対照として正常家兎脳髄についてみるに、第2表に示す如く、遊離アミノ窒素量は最高0.5011 mg/g、最低0.4206 mg/g、平均

家兎脳髄遊離アミノ窒素量
(第2表)

正 常 家 兎 mg/g
0.4552
0.4661
0.4206
0.4337
0.5011

平均 0.4553 mg/g

0.4553 mg/g である。

第2項 重積痙攣中の家兎脳髓

第3表に示す如く、遊離アミノ窒素量は最高 0.3385 mg/g, 最低 0.2388mg/g, 平均 0.3006 mg/g である。

(第3表)

重積中脳摘出家兎 mg/g
0.3385
0.3052
0.3314
0.2893
0.2388

平均 0.3006 mg/g

第3項 重積痙攣経過後の家兎脳髓

第4表に示す如く、遊離アミノ窒素量は最高 0.3974 mg/g, 最低 0.2247 mg/g, 平均 0.3324 mg/g である。

(第4表)

重積経過家兎 mg/g
0.3519
0.3474
0.2247
0.3974
0.3240
0.3492

平均 0.3324 mg/g

第4項 小 括

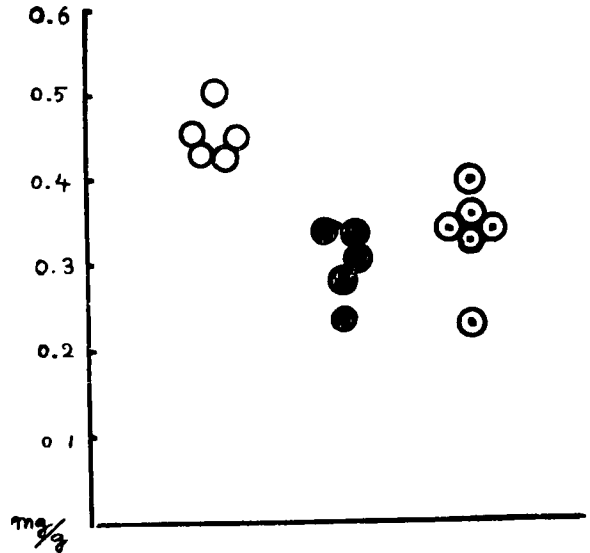
第1図に示す如く、家兎脳髓遊離アミノ窒素量は正常家兎に最も多く、重積痙攣中のものは最低値を示し、重積痙攣後20~24時間経過したものでは重積痙攣中のものに比較してやや増加の傾向を示すが、未だ正常には復していない。

第2節 グルタミン酸変動値

第1項 正常家兎脳髓

対照として正常家兎脳髓についてみるに、第5表に示す如く、グルタミン酸量は最高 1.6895 mg/g, 最低 1.2301 mg/g, 平均 1.5501 mg/g である。

第1図 家兎脳髓遊離アミノ窒素変動値



- 重積痙攣中脳摘出家兎
- ⊙ 重積痙攣経過後脳摘出家兎
- 正常家兎

家兎脳皮質グルタミン酸量
(第5表)

正 常 家 兎 mg/g
1.6895
1.6151
1.5375
1.4885
1.5955
1.2301
1.6160
1.6290

平均 1.5501 mg/g

第2項 重積痙攣中の家兎脳髓

第6表に示す如く、最高 1.3065 mg/g, 最低 0.3518 mg/g, 平均 0.9543 mg/g である。

(第6表)

重積中脳摘出家兎 mg/g
1.1145
1.2975
1.2860
1.2740
1.3065
0.3962
0.6082
0.3518

平均 0.9543 mg/g

第3項 重積痙攣経過後の家兎脳髓

第7表に示す如く、最高 1.5608 mg/g、最低 0.8103 mg/g、平均 1.2425 mg/g である。

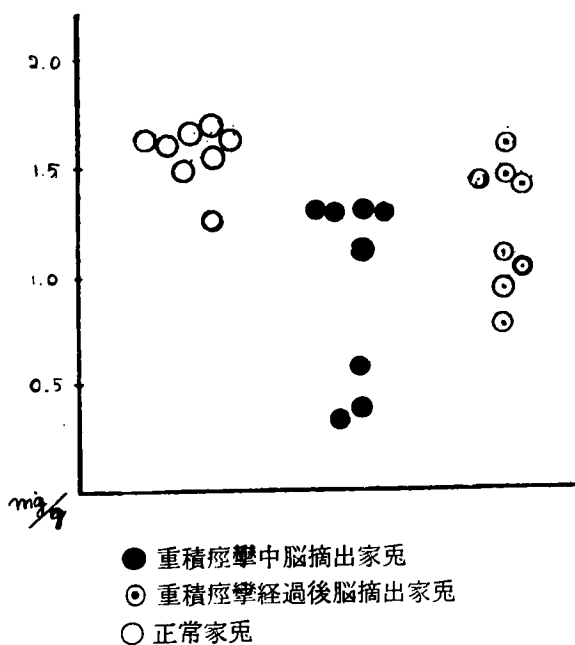
(第7表)

重積経過後脳摘出家兎 mg/g
0.9477
0.8103
1.4920
1.0715
1.1940
1.4140
1.4500
1.5608
平均 1.2425 mg/g

第4項 小 括

第2図に示す如く、家兎大脳皮質内グルタミン酸量は、重積痙攣中のものは正常家兎に比し著明に減少する。また重積痙攣経過後のものは、重積痙攣中のものに比較してやや増加の傾向にあるが、未だ正常に復していない。すなわち遊離アミノ窒素の示す態度と全く同様である。

第2図 家兎脳髓グルタミン酸変動値



第4章 総括並びに考按

(1) 遊離アミノ窒素量について

前述の如く、遊離アミノ窒素量は重積痙攣

中に最低値を示し正常値の $\frac{2}{3}$ に減少し、痙攣後 20～24 時間ではやや増加の傾向を示すが、正常値までは恢復していない。

従来脳内遊離アミノ酸に関する研究は比較的少い。特に痙攣との関係については、Haber & Saidel⁴⁷⁾ が Strychnin 痙攣時の鼠脳において、グルタミン酸の減少を報告し、井上³⁷⁾ は真性癲癇脳及び痙攣誘発家兎脳において、高木³⁸⁾ は痙攣各期の犬大脳において各々遊離アミノ窒素の減少を報告し、又和田⁴⁸⁾ は癲癇脳及び重積痙攣変動物脳にグルタミン酸を中心とする各種アミノ酸の減少を報告しているが、此等の成績は私の実験値とよく一致している。

(2) グルタミン酸量について

脳内グルタミン酸に関しては、脳内アミノ窒素の 40～80% はグルタミン酸であると述べた Weil-Malherbe²³⁾ の研究及び濾紙クロマトグラフ法により検出した脳髓アミノ酸中グルタミン酸が最も多いと述べた井上³⁷⁾ の研究、またグルタミン酸及びこれに関係する物質であるグルタミン、 α アミノ酪酸の総量は、脳内遊離窒素化合物の 70% を占める濃度に含まれていると述べた Krebs その他⁴⁹⁾⁵⁰⁾ の研究がある。

そこでアミノ窒素の大半を占めるグルタミン酸について実験したところ、重積痙攣中に最低値を取り、20～24 時間後に増加の傾向を示すが正常まで恢復せず、アミノ窒素変動値の場合と同様の傾向を示すことを知った。しかしその傾向はグルタミン酸の場合よりも遊離アミノ窒素の場合により著明であつた。

私の実験では正常家兎脳髓のグルタミン酸中の窒素量は、脳髓遊離アミノ窒素量の 32.41%、重積痙攣中のものでは 30.2%、重積痙攣経過後のものでは 30.58% である。

さて以上諸家の研究、及び私の実験でも明らかな如く、真性癲癇脳、脳局所アナフィラキシー脳、実験的痙攣脳においては、総てグルタミン酸を中心とする遊離アミノ窒素が減少しているが、脳内におけるグルタミン酸は、如何なる働きをするのであろうか。

久保⁵¹⁾は白鼠脳において、グルタミン酸は α -ケトグルタル酸を経てコハク酸になり、TCA サイクルを通り CO_2 と H_2O とに分解し、一方その中間代謝産物により葡萄糖の分解を促進すると述べている。高田⁵²⁾も酸化還元電位的研究によりこの事実を認めている。

Waelsch³⁴⁾, Sapirstein³⁵⁾, 宗本²⁴⁾は癲癇小発作はグルタミン酸投与により抑制され、グルタミン酸は NH_3 発生を抑えると述べている。

江副²⁹⁾は抗痙攣剤は、グルタミン酸脱水素酵素の作用能を促進し、特にグルタミン酸合成の方向に働き、 α -ケトグルタル酸 $+\text{NH}_3 \rightarrow$ グルタミン酸の方向に進み、 NH_3 除去の作用があると考えている。

Acetylcholine との関係については、グルタミン酸は Acetylcholine を合成する Cholineacetylase の働きを促進する⁵³⁾⁵⁴⁾と考えられている。又痙攣物質である Methioninsulfoximine が、Cholineacetylase に阻害的に作用し、グルタミンをこの反応系に加えると恢復するといわれている⁵⁵⁾⁵⁶⁾ことより、グルタミン酸と Acetylcholine 代謝との間に密接な関係があることが予想される⁵⁷⁾。

カリウムとの関係については、Weil-Malherbe²³⁾はグルタミン酸は、神経細胞膜の透過性に作用し、カリウムイオンの喪失を防ぐと述べている。また Cicardo⁵⁸⁾は電気刺戟や Metrazol, Insulin 注射等による実験的痙攣発作中には脳皮質細胞内に、カリウムの減少が見られるといっており、また McQuarrie⁵⁹⁾は痙攣発作中の血清カリウム量の増加は、カリウムが細胞から漏出するためであつて、神経細胞表面透過性の亢進は癲癇痙攣発作発現の原因であろうと考えている。この様にカリウムと痙攣とグルタミン酸との間にも、密接な関係があると考えられている。

以上述べた如く、脳組織におけるグルタミ

ン酸代謝は、一面では電解質代謝に、一面では蛋白質代謝に、又一面では含水炭素代謝に直接した代謝過程で、とくに痙攣と密接につながる Acetylcholine 代謝、 NH_3 代謝、K 代謝、糖代謝等に対する影響は大きく、非常に複雑なものであつて、現在のところまだその詳細は明らかにされていない。従つて重積痙攣を惹起せしめた場合、何故にグルタミン酸が減量するかについては一概に論ずることはできない。しかしながらとにかくグルタミン酸はかかる脳髓の異常代謝に対し調節的に働き、一般に痙攣に対しては鎮痙的に作用する面が多い。

いま仮に痙攣時グルタミン酸量、ひいては遊離アミノ窒素量が減少する理由を最も端的に考えることが許されるならば、おそらく痙攣により脳髓中に発生したアンモニアが脳髓内に常存するグルタミン酸と結びつき、グルタミンとなるために消費せられて減量したものと考えることが出来る。

何れにしても、私の実験成績により痙攣時に脳髓アミノ窒素並びにグルタミン酸が減少することは明らかである。

第5章 結 論

1) 重積痙攣家兎脳髓の遊離アミノ窒素量を測定したところ、正常家兎に比し痙攣中は著明に減少しており、重積痙攣後20～24時間にも尚正常値まで恢復しないことを知つた。

2) 同じく重積痙攣家兎脳髓のグルタミン酸量を測定したところ、正常家兎に比し痙攣中は減少しており、重積痙攣後20～24時間でも正常値まで恢復しないことを認めた。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜つた恩師陣内教授、並に御指導、御助言を頂いた教室井上前講師に深甚な謝意を表す。

参 考 文 献

1) M. G. Peterman.: M. Clin. North. America, 8, 1351 (1925)

2) I. Mc Quarrie. . A. J. Dis. Child, 38, 451 (1929)

- 3) I. McQuarrie: *A. J. Int. Med.*, **6**, 497 (1932)
- 4) 宮川九平太: *精神神経誌*, **42**, 518 (1938)
- 5) E. J. Bigwood *Ann. Méd.*, **15**, 24, 119 (1924)
- 6) S. J. Meltzer, J. Auer *Am. J. Physiol.*, **14**, 366 (1905)
- 7) A. S. Blumgarten, G. L. Rohdenberg *Arch. Int. Med.*, **39**, 372 (1927)
- 8) A. Wolf: *J. Neur. & Psychopath.*, **16**, 213 (1936)
- 9) M. Brown, H. A. Paskin *A. J. Psychiat.*, **93**, 1009 (1936)
- 10) H. Hoagland: *A. J. Physiol.*, **123**, 102 (1938)
- 11) F. A. Gibbs, W. G. Lennox *Arch. Neur. & Psychiat.*, **39**, 298 (1938)
- 12) H. J. Schow: *Acta. Psychiat. et Neur.*, **12**, 533 (1937)
- 13) S. Maddock, J. E. Hawkins & E. Holmes *A. J. Physiol.*, **125**, 551 (1939)
- 14) 徳岡俊次: *精神神経誌*, **53**, 139 (1951)
- 15) 林蔵: 第28回日本生理学会総会 (1951)
- 16) C. D. Aring, et al.: *Arch. Neur., & Psychiat.*, **46**, 649 (1941)
- 17) Fischer u. Thurzo *Zbl. Neur.* **43**, 707 (1926)
- 18) I. McQuarrie: *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, **56**, 242 (1944)
- 19) 尾辻達志: *長崎医学誌*, **18**, 2640 (1940)
- 20) 兼松武雄 *岡山医学誌*, **65**, 1271 (1953)
- 21) N. Olsen, J. R. Klein *Epilepsy, Baltimore*, **118** (1947)
- 22) 宇都宮信博: *岡山医学誌*, **65**, 1355 (1953)
- 23) H. Weil-Malherbe *Physiol. Review*, **30**, 549 (1950)
- 24) 宗本尚徳: *台湾医学誌*, **41**, 497 (1942)
- 25) H. A. Krebs *Bioch. J.*, **29**, 1951 (1935)
- 26) H. Waelsch, J. C. Price & T. J. Putnam *J. A. M. A.*, **122**, 1153 (1943)
- 27) D. Nachmansohn, H. M. John, & H. Waelsch: *J. Biol. Chem.*, **150**, 485 (1943)
- 28) D. Nachmansohn, A. L. Machado *J. Neurophysiol.*, **6**, 397 (1943)
- 29) 江副勉: 第49回日本精神神経学会 (1952)
- 30) 林蔵: 条件反射, **4**, 181 (1942)
- 31) 松本忍: 条件反射, **11**, 19 (1944)
- 32) 藤井千枝子: 条件反射, **13**, 31 (1948)
- 33) Dusser De Barrene: *Quart. J. Exp. Physiol.*, **9** (1916)
- 34) H. Waelsch: *Advances in Protein Chemistry*, **2**, 385 (1932)
- 35) M. R. Sapirstein: *Proc. Soc. Exp. Med.*, **52**, 334 (1945)
- 36) 中脩三: *精神神経誌*, **49**, 87 (1947)
- 37) 井上圭爾: *岡山医学会誌*, **64**, 1637 (1952)
- 38) 高木秀雄: *岡山医学会誌*, **65**, 1 (1953)
- 39) 島山哲朗: 誌上未発表.
- 40) 富永一: 第50回日本精神神経学会 (1953)
- 41) D. D. Van Slyke *Quantitative clinical Chemistry*, **2**, 385 (1932)
- 42) 藤井暢三: 生化学実験法, 定量編.
- 43) 赤堀四郎: *蛋白質化学*, **1**, 179 (1954)
- 44) 藤田秋治: 検圧法と其応用, 472 (1949)
- 45) K. Okunuki: *Proc. Jap. Acad.*, **27**, 658 (1951)
- 46) O. Schales, S. Schales *Arch. Bioch.*, **11**, 445 (1946)
- 47) C. Haber, L. Saidel cited from Weil-Malherbe *Physiol. Review*, **30**, 549 (1947)
- 48) 和田淳: *精神神経誌*, **53**, 318 (1951)
- 49) H. A. Krebs, et al. *Bioch. J.*, **44**, 159 (1949)
- 50) E. Rober, et al.: *J. Biol. Chem.*, **187**, 55 (1950)
- 51) 久保秀夫: *日新医学*, **36**, 130 (1949)
- 52) 高田文夫: *日本生理学雑誌*, **11**, 212 (1949)
- 53) D. Nachmansohn: *J. Neurophysiol.*, **6**, 383 (1943)
- 54) K. E. Albert, C. J. Warden *Science*, **100**, 476 (1944)
- 55) E. Monahan *Am. J. Physiol.*, **159**, 248 (1949)
- 56) D. B. Tower *Feder. Proc.*, **10**, 260 (1951)
- 57) 中山悌志: *生体の科学*, **4**, 228 (1953)
- 58) V. H. Cicardo *J. Nerv. & Ment. Dis.*, **101**, 527 (1945)
- 59) I. McQuarrie *Am. J. Int. Med.*, **6**, 497 (1932)

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

Experimental studies on glutamic acid in rabbits brain with
repeated convulsions

Part I. On free amino-nitrogen and glutamic acid in
rabbits brain with repeated convulsions

By

Hisao Tomozawa M, D.

The changes of the amount of free amino-nitrogen and glutamic acid were investigated in the rabbits brain with repeated convulsions caused by hexogen.

The free amino-nitrogen was measured by Van-Slyke-Neil gasmetric apparatus, and the glutamic acid was measured by Warburg gasmetric apparatus with glutamic acid decarboxylase. The results were as follows.

	Normal Rabbits Brain	During Repeated Convulsions	20-24 Hours after Repeated Convulsions
Free Amino-nitrogen	0.4553 mg/g	0.3006 mg/g	0.3324 mg/g
Glutamic acid	1.5501 mg/g	0.9543 mg/g	1.2425 mg/g

The free amino-nitrogen as well as the glutamic acid were the most in the normal brain and the least during the repeated convulsion, and they showed a certain increase at 20—24 hours after the repeated convulsions compared with those during the convulsions, but still apart from the normal.

Glycolysis was depressed by sodium glutamate in the normal rabbits brain which had enough glutamic acid, but the glycolysis was rather accelerated by sodium glutamate in the rabbits brain which had repeated convulsions and thus scarce glutamic acid, when the sodium glutamate was added to the irrigating fluid of the vessels in the brain and then the glycolysis was measured in each irrigating fluid before and after irrigation.

Therefore, it could be concluded that sodium glutamate has the effect of regulation to keep the normal and moderate glycolysis in the brain.