616-089.583.29:612.822.1

招 温 法の 低 体 研 究

特に大脳皮質遊離でアミノ酪酸, グルタミン酸、アスパラギン酸について

岡山大学医学部砂田外科教室(主任:砂田輝武教授)

大学院学生 関

洲

[昭和40年12月27日受稿]

次

第1章 緒 言

第2章 実験材料ならびに実験方法

第1項 実験動物及び実験方法

第2項 温度測定法

第3項 大脳皮質遊離アミノ酸測定方法

第4項 統計的処置

第3章 実験成績

第1節 脳温と直腸温の関係

第2節 呼吸停止と直腸温の関係

第3節 対照群の大脳皮質遊離 7-アミノ 酪酸 (以下 GABA と略す),遊離グルタミ

ン酸, 遊離アスパラギン酸の変動

第1項 遊離 GABA

第2項 遊離グルタミン酸

第3項 遊離アスパラギン酸

第4項 小 括

第4節 人工呼吸群の大脳皮質遊離 GABA,遊 離グルタミン酸, 遊離アスパラギン酸 の変動

第1項 遊離 GABA

第2項 遊離グルタミン酸

第3項 遊離アスパラギン酸

第4項 小 括

第5節 加温過程における大脳皮質遊離GABA, 遊離グルタミン酸, 遊離アスパラギン 酸の変動

第1項 心搏動回復群

第2項 心搏動非回復群

第1章 緒

低体温法は生体に加わる侵襲に対し体温を人為的

第3項 心搏動・自発呼吸回復群

第4項 心搏動回復・自発呼吸非回復群

第5項 心搏動・自発呼吸非回復群

第6項 小 括

第6節 チトクロームC投与群の大脳皮質遊離 GABA、遊離グルタミン酸、遊離アス パラギン酸の変動

第1項 遊離 GABA

第2項 遊離グルタミン酸

第3項 遊離アスパラギン酸

第4項 小 括

第7節 ピリドキサール燐酸投与群の大脳皮質 遊離 GABA, 遊離グルタミン酸, 遊 離アスパラギン酸の変動

第1項 遊離 GABA

第2項 遊離グルタミン酸

第3項 遊離アスパラギン酸

第4項 小 括

第8節 アデノシン-3-燐酸(以下 ATP と 略す) 投与群の大脳皮質遊離 GABA, 遊離グルタミン酸、遊離アスパラギソ 酸の変動

第1項 遊離 GABA

第3項 遊離グルタミン酸

第3項 遊離アスパラギン酸

第4項 小 括

第4章 考 案

第5章 結 言

に低下させ、それにより惹起される病態生理学的変 化を生体防禦のために有利に応用しようとするもの であり、その概念は古くすでに Curriel)はアルコー

ル中毒患者の治療に低体温法を使用し、ある種の疾患の治療に対し、低体温法の有用性を示した。以来多数の研究が行われたが、とくに近年心臓・血管外科への応用により本法の有用性は確立され、今日ではすでに routine の方法として日常広く使用され、本法のみで、または低体温法と体外循環法の併用により、複雑な心疾患も比較的安全に根治し得る段階に達しているが、今後なお解決すべき多くの問題が残されていることはいうまでもない。

恒温動物が体温を一定に保つことは、生体にとつて極めて重要であり、体温下降により生体が何らかの影響をうけることは当然想像される。低体温下における生体の変化、特に重要臓器におこる生理学的ならびに生化学的変化の研究は低体温法の安全な臨床応用に必要である。とくに生命現象の中心的役割を果している脳の低温における変化に関する研究は絶対に欠くことができない。

低体温の限界については異論があり、1954年 Andjus²⁾ はダイコクネズミを -5°C まで冷却し、80~100%の長期生存率をえたことを報告しているが、Gollan³⁾ は 0°C を低体温の限界としている。 臨床例でも低体温時の脳合併症に関して多数の報告があるが、これらの多くは低体温に体外循環を併用しているため、脳合併症の原因が低体温そのものによるか、体外循環によるかは不明な例が多い。 低体温法及び体外循環研究初期に報告された脳合併症の多くは体外循環に関係あると思われる例が多く、同法の研究、発展とともに脳合併症の発生頻度は減少し、一般に、今日用いられている程度の低体温では低温そのものによる脳合併症は少なく、むしろ低体温時の体外循環に関係ある場合が多いようである。

しかしながら、超低体温時におこる脳変化が可逆性か否か、あるいはその臨床的意義に関する諸家の意見は異なり、Jensen() は 12~18°C では神経学的変化は認められなかつたが、8.0~12.0°C で変化が認められたといい、Björk 5) らも 12°C 以下では脳障碍が高率に発生すると報告し、Valdmirox 6) らは超低体温時には酵素系統の抑制により、phospholipid、lipoproteinの変化がおこると報告している。しかしながら Dubost7) は 12°C 以下の超低体温を行つた2例に脳障碍を認めなかつたと報告している。

脳の遊離アミノ酸は特定のアミノ酸が大半を占め, 脳蛋白,他組織蛋白のアミノ酸組成のみならず,血 清,脳脊髄液のそれとも著しく異つた組成を有し, 種属間にもほとんど差がなく⁸⁾,脳機能発現期まで に一定の含量に達する。さらに脳血液関門, アミノ酸維持の自律性は, 脳遊離アミノ酸が単に脳蛋白の素材としての意味だけでなく, 脳機能と極めて密接な関係を有するものと推測される 9). 遊離アミノ酸の大半を占めるアミノ酸は, グルコースから代謝的に合成され, 脳代謝との関連性からも重要な問題である。

著者はラッテを用い、超低体温下の大脳皮質遊離アミノ酸、特に脳の機能、代謝と関係があると思われる。7-アミノ酪酸(以下 GABA と略す)、グルタミン酸、アスパラギン酸の変化を検索し、興味ある知見をえたので報告する。

第2章 実験材料ならびに実験方法

第1項 実験動物及び実験方法

実験動物には体重 80~220g の雑種成熟ラッテを 用いた.

麻酔は麻酔用エーテルを用い、ラッテをガラス製 蓋つき円筒に入れ、上部口よりエーテルを滴下し、肋間筋呼吸運動が微弱になるまで、即ち第3期第3 相まで麻酔し、実験目的にしたがい、氷水のみによる表面冷却、あるいは氷水、さらにドライアイス・メタノール液による表面冷却により目的温度まで冷却した。人工呼吸群で20°C以下の冷却に際しては、氷水で20°Cまで表面冷却したのち、気管切開をおこない、以後心停止まで、補助呼吸或は人工呼吸をおこないながら、ドライアイス・メタノール液による表面冷却で目的温度まで冷却した。

加温群では上述の方法で約 2° C まで冷却し、afterdrop で 0° C となつたのち、 $5\sim10$ 分間放置し、温水で表面加温をおこない、心搏動開始より自発呼吸回復まで人工呼吸、自発呼吸回復後は補助呼吸をおこない、所定の温度まで加温した。

薬剤投与群ではエーテル麻酔中に、尾静脈より薬 剤を注入し、冷却例では前述の人工呼吸群に準じて 冷却した。

第2項 温度測定法

細いアルコール温度計,又はコンスタンタン,銅線の結合による熱電対を肛門より挿入し,先端が横隔膜直下に達するまで挿入し経時的に測定した。脳温測定は直腸温で所定温度まで冷却したのち,直ちに脳を摘出し測定した。熱電対は毎回使用前アルコール温度計により温度調節をおこない使用した。

第3項 大脳皮質遊離アミノ酸測定方法

所定温度で全脳を摘出し、直ちにドライアイスで

冷却,保存し,島津製作所製電気平秤 Libror Type L₂-lA で大脳皮質 100mg を秤量した.

アミノ酸測定は塚田の方法10)による一段発色法ペ ーパークロマトグラフィーによつた. 即ち, 大脳皮 質を 100 mg 秤量後, ホモジェナイザーで約10倍量 の75%エチルアルコールとともにホモジェナイズし, 遠沈後上清をとり、更に同量の75%エチルアルコー ルを加え, 沈渣を洗浄後遠沈し, 上清を前試料と合 せ,50°C 以下で加温,かつ水流ポンプで吸引しな がら乾燥した. 次に蒸留水 0.5 ml を加え試料をよ く溶解したのち、クロロホルム3mlを加え振盪し、 3,000~4,000 r.p.m,10分間遠沈し,最上層の水層 部 0.1ml を巾 3 cm の東洋濾紙 No.51 に送風下で つけた. 濾紙につける試料と溶媒との間は逆渗透を 防ぐ意味で 5.5cm あけた、溶媒にはフェノール・ 水(4:1)を使用した。発色は展開した濾紙より フェノールを十分に除去するため、2~3日間通風 のよいところに放置したのち, 0.15%ニンヒドリン ・純アルコール溶液を噴霧し,75°C 30 分間乾燥器 内で加熱、発色せしめ、各アミノ酸のスポットをマ ークして切りとり、60%エチルアルコール6.0mlを 加え,ときどき振盪しながら20分以上放置,完全に 抽出したのち. Coleman 社製 Spectrophotometer Model-14 を用い 570mu で比色定量した.

測定は展開、発色などの条件を出来るだけ一定にし、測定誤差を少なくするため、一組の実験は同一の展開、発色で測定するように努めた。一回の測定には必ず盲検をおこなつた。

第4項 統計的処置

同一条件下の実験は原則として5匹以上(最小数2匹)の成熟ラッテを用いた。アミノ酸測定は一匹のラッテで1~4回(多くは2~3回)おこなつた。 測定値は近代数理統計学II)に基づいて処理した。 測定値の棄却については Thompson 棄却検定法

$$S^{2} = \frac{1}{N} \sum xi^{2} - \bar{x}^{2}$$

$$\gamma_{0}^{2} = \frac{(xn - \bar{x}^{2})}{S^{2}}$$

$$F_{0} = \frac{n\gamma_{0}^{2}}{n+1-\gamma_{0}^{2}} \qquad (n=N-2)$$

を用い、測定値の棄却判定をおこなつた。本論文ではすべての測定値を記載したが、同式により危険率0.05で捨却しうる測定値は、すべて除外して論じてある。

二つの標本平均値の比較には

$$W^{2} = \frac{\sum_{i=1}^{M} (x_{i} - \bar{x})^{2} + \sum_{i=1}^{N} (y_{i} - \bar{y})^{2}}{M + N - 2}$$

$$F_{0} = \frac{(\bar{x} - \bar{y})^{2}}{W^{2}} \left(\frac{MN}{M + N}\right)$$

を用いて、標本平均値の差を危険率0.05で判定した。 標本平均値の信頼限界には

$$U^2 = \frac{1}{N-1} \left(\sum x_i^2 - N \times \overline{x}^2 \right)$$

 F $\geq \frac{N(\overline{x} - m)^2}{IT^2}$ (危険率0.05)

を用いて処理した。

第3章 実 験 成 績

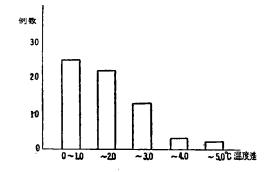
第1節 脳温と直腸温の関係

本実験でラッテの体温を論ずる場合はすべて直腸 温を基準として述べてある.

本実験の直腸温測定はサミスター (コンスタンタン, 銅線の結合による熱電対), 又は細い温度計を肛門より, 先端が横隔膜の下に達するまで挿入し, 体温を測定した. したがつて直腸温というよりはむしろ下行, 又は横行結腸温で, 測定部位が横隔膜下のため, いわゆる直腸温よりは体の中心部の温度を測定したことになる.

65例で脳温と直腸温との関係を調べたが,両者の間に一定の恒常的な温度差はなく,直腸温に比べ脳温が高い例も,低い例もあつた.両者の差が $0\sim1.0^{\circ}$ C の場合が25例, 2.0° Cまで22例, 3° Cまでが13例, 4° Cが3例, 5° Cが2例であつた(図1).

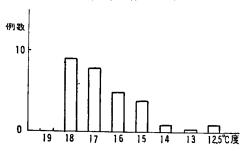
図1 大脳皮質と直腸温の温度差



第2節 呼吸停止と直腸温の関係

体温低下とともに呼吸運動は緩慢となりついには 停止する。停止前の呼吸は極めて浅く、動きが緩慢 のため停止時の温度を明確に判定するのは困難であ る。しかし呼吸運動は直腸温 20°C を境として急速 に減弱するようである。27例について呼吸運動停止時の直腸温を測定したが、 18° C で停止したのが9例、 17° Cが7例、 16° Cが5例、 15° Cが4例、 14° C および 12.5° C がそれぞれ 1 例であつた (図 2)、

図2 呼吸停止温



第3節 対照群の大脳皮質遊離 GABA, 遊離グルタミン酸, 遊離アスパラギン酸の変動

対照群として43匹の成熟ラッテを用いた. ラッテはエーテルで麻酔後、常温の対照群以外は 20°C まで氷水で表面冷却, 20°C 以下はドライアイス・メタノール液で表面冷却をおこない, 所定の温度まで冷却した. 20°C 以下の冷却でも気管切開, 補助, 人工呼吸はおこなわなかつた. 各温度の遊離 GABA, 遊離グルタミン酸, 遊離アスパラギン酸含有量の測定結果は表1に示すとおりである.

表1 対照群の大脳皮質遊離 GABA, グルタ ミン酸, アスパラギン酸量 (mg/100g)

Rat No.	GABA	グルタ ミン酸	アスパラ ギ ン 酸
常温			
	40	131	: 57
α.	32	132	56
Ci	40	132	57
	40	165	64
C 2	41	121	60
	39	125	64
Сз	45	※ 180	60
	47	167	58
	※ 70	144	82
Č4	51	※ 67	72
	65	158	69
C 5	49	※ 77	51
~	※ 73	148	74
C 6	54	95	51

C7	56	※ 67	54
	44	140	63
C ₈	47	172	77
	44	※ 180	77
Сa	38	172	64
	29	105	47
平均值	44.5±4	140.5±23	62.8±5
30° C			
	32	121	60
C 10	28	137	54
	44	151	72
	28	137	69
C 11	24	100	54
	36	117	66
平均值	32 ± 8	127.1±18	62.5±9
25°C			•
	42	99	64
C 12	41	105	69
	※ 54	86	68
	24	119	66
C 13	24	105	51
	28	141	73
	19	113	60
C 14	19	108	57
	28	133	65
	19	110	- 66
C 15	28	133	60
	34	※ 171	. 74
Cu	34	133	77
C 16	33	110	72
平均值	28.7±4	115.0±8	65.8±3
2 0°C		· ,	
O er	43	141	75
C 17	47	152	77
0	40	130	81
C 18	44	148	79
	32	141	89
C 19	32	138	89
•	i .	100	
C 20	28	100	92

	40	126	74
C 21	32	96	69
	28	※ 46	※ 48
C 22	₩ 68	96	69
————	54	81	63
C 23	6 0	138	95
	60	125	86
	57	109	84
C 24	54	77	66
	44	91	72
C 25	※ 14	155	66
平均值	42.8±5	120.3±14	78.2±6
15°C			
Clar.	36	108	72
C 26	24	121	77
C 27	40	100	78
C 28	36	146	92
	34	137	72
C 29	35	96	68
0	36	116	82
C 30	49	134	62
C 31	40	68	82
	36	86	85
C 32	34	137	72
	32	100	64
平均値	36 ± 4	112±16	77 ± 4
10°C			
	62	107	76
C 33	64	113	7 8
~	73	12 0	92
C 34	80	138	88
O ==	67	108	82
C 35	57	99	72
Con	52	108	79
C 36	62	125	86
Car	65	98	88
C 37	58	81	69
平均值	64.0±5	110.0±10	81.0±6

5°C 以下

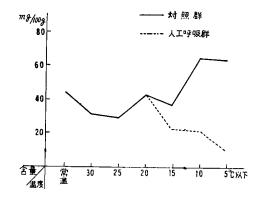
	※ 1 00	143	78
C 38	※ 98	131	78
~	68	167	92
C 39	68	172	93
	67	108	80
C 40	73	105	91
	59	121	74
C 41	60	145	83
C 42	64	124	62
	59	112	77
C 43	48	※ 76	80
平均値	63.0±5.8	127.6±22	80.7±9

※: Thompson の棄却検定法で棄却

第1項 遊離 GABA

常温の遊離 GABA 含有量は $44.5\pm4\,\mathrm{mg/100g}$ で体温低下とともに含有量は $25\,^\circ\mathrm{C}$ まで減少し、 $25\,^\circ\mathrm{C}$ で $28.7\pm4\,\mathrm{mg/100g}$ と最低となるが、以後増加し、 $10\,^\circ\mathrm{C}$ では $64\pm5\,\mathrm{mg/100g}$ に達した。しかし $20\,^\circ\mathrm{C}$ 間と $10\,^\circ\mathrm{C}$ 以下では増加はみられない(図 3).

⊠3 GABA



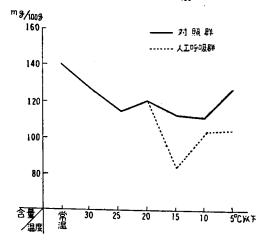
第2項 遊離グルタミン酸

常温での遊離グルタミン酸は $140.5\pm23\,\mathrm{mg}/100\,\mathrm{g}$ で $25^{\circ}\mathrm{C}$ まで減少し、 $20^{\circ}\mathrm{C}$ で一時的に増加するが、 $20^{\circ}\mathrm{C}$ 以下で再び減少し、 $5^{\circ}\mathrm{C}$ より再び増加した。但し統計学的には $25^{\circ}\mathrm{C}$ より $10^{\circ}\mathrm{C}$ までの変量は無意味であつた (図 4).

第3項 遊離アスパラギン酸

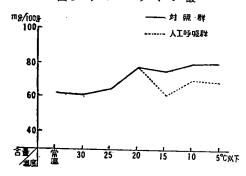
常温の遊離アスパラギン酸含有量は $62.8 \pm 5\,\mathrm{mg}/100\,\mathrm{g}$ で体温が低下しても、 $25\,^\circ\mathrm{C}$ まで含有量はほぼ一定値を示したが、 $25\,^\circ\mathrm{C}$ より $20\,^\circ\mathrm{C}$ 間で増加し、

図4 グルタミン酸



 20° C では $78.2\pm6\,\mathrm{mg}/100\,\mathrm{g}$ となり,以後は体温が低下してもほぼ一定含有量にとどまつた(\boxtimes 5).

図5 アスパラギン酸



第4項 小 括

GABA, グルタミン酸の両アミノ酸は,体温低下とともに 25° C まで減少するのに反し,アスパラギン酸はほぼ一定値にとどまり,減少はみとめられなかつた. 25° C から 20° C にかけて,3 アミノ酸とも増加を示し,GABA,アスパラギン酸は統計学的にも有意の変化がみとめられた.以後 GABA では 15° C まで変量はなく, 10° C で急激に増量するのに対し,グルタミン酸は 15° C 以下でやや減少するが統計学的に意味がなく, 5° C より急激に増加した.アスパラギン酸は 20° C 以下では変量はなく,ほぼ一定であつた.

第4節 人工吸呼群の大脳皮質遊離 GABA, 遊離 グルタミン酸, 遊離アスパラギン酸の変動

体温が低下するにしたがい呼吸運動は漸次緩慢となり、体温が 20°C 以下に低下すると呼吸運動は急速に減弱する. 低温による呼吸停止は図2の如く,

多くは18~15°C で停止する.人工呼吸群では20°C 前後で気管切開をおこない,心停止まで補助呼吸および人工呼吸をおこない,大脳皮質遊離GABA,グルタミン酸,アスパラギン酸量を測定した.測定値は表2の如くである.

表2 人工呼吸群の大脳皮質遊離 GABA, グルタミン酸, アスパラギン酸量 (mg/100g)

	() (2)	・・ノーン政医	(mg/100g)
Rat No.	GABA	グルタ	アスパラ ギン酸
15°C			
ъ.	11	64	51
Rt	12	77	48
\mathbf{R}_{2}	19	70	55
	16	77	51
R3	19	76	48
	17	70	54
	※ 63	133	※ 102
$\mathbf{R_4}$	44	81	79
	49	96	84
	19	113	76
R_5	24	70	57
	28	100	72
R ₆	. 9	※ 151	72
平均值	22.2±7.7	83.0±21.0	62.1±6.1
10°C			
R7	21	68	※ 43
	19	44	※ 39
R_8	24	75	60
D.	6	81	56
Rs	15	100	55
	6	121	6 9
\mathbf{R}_{10}	11	100	69
	14	161	
n.	44	76	64
R11	41	129	84
D 10	44	86	79
R 12	44	117	82
R ₁₃	8	133	84
	8	144	84
平均值	21.8±8.8	102.5±21.2	71.4±8.2

5°C	以	F
3 U	U.	ľ

	·		
R ₁₄	19	86	፠ 38
	23	86	※ 37
R 15	14	109	66
	19	67	72
R 16	15	121	79
	3	110	77
	3	109	88
R 17	3	※ 38	72
	3	117	82
	3	85	76
R 18	3	85	64
	3	121	77
	9	129	86
R 19	3	※ 158	91
	9	111	73
	19	※ 25	47
R ₂₀	14	※ 38	48
	21	※ 38	65
~	16	117	92
R 21	3	123	65
D	11	97	49
R 22	3	፠ 63	50
平均値	10.0±3.2	104.2±17.7	70.9±7.9

※: Thompson の棄却検定法で棄却

第1項 遊離 GABA

20°C で一時的増加を示した GABA は,以後対照群では増加するのに反し,本群では $15\sim10$ °C 間を除き,体温低下とともに急激な減少を示し,5°C 以下では $10.0\pm3.2\,\mathrm{mg}/100\,\mathrm{g}$ まで減少した(図 3).

第2項 遊離グルタミン酸

本群ではグルタミン酸は 20° C より 15° C まで減少し、 83.0 ± 21.0 mg/100g となり、対照群では 5° C 以下で再び増加するのに反し、本群では 10° C で再び増加し、以後はほぼ一定し 5° C 以下では 104.2 ± 17.0 mg/100g となつたが、対照群の最低値より小であつた(図 4).

第3項 遊離アスパラギン酸

アスパラギン酸は 20° C で増加したのち、対照群では著明な変化を示さないのに、本群では 20° C で一時的に増加したのち、 15° C まで減少し、最低値 $62.1\pm6.1\,\mathrm{mg}/100\,\mathrm{g}$ となり、以後はほぼ一定の値を

示した(図5).

第4項 小 括

人工呼吸群では対照群に比べ、3 アミノ酸すべての含有量が各温度で少い、対照群では20 °C から15 °C にかけて3 アミノ酸含量に軽度の減少はみられるが統計学的には有意の差がないのに対し、人工呼吸群ではすべて減少し、統計学的にも有意の差がみとめられた。

GABAは対照群と人工呼吸群とで著しい変量の相違を示し、体温低下とともに、対照群では増加するのに対し、人工呼吸群では低下する一方であった.

グルタミン酸、とくにアスパラギン酸はむしろ対 照群に類似した変化を示した。但しグルタミン酸では 15° C での減少が対照群に比べて高度で、再増加 が対照群では 5° C 以下でみられるのに対し、人工 呼吸群では 5° C 早く 10° C でみられ、しかも増加後も対照群の増加前の最低値より小であつた。

アスパラギン酸でも人工呼吸群では **15℃** における一時的減少が大であつた.

第5節 加温過程における大脳皮質遊離 GABA, 遊離グルタミン酸,遊離アスパラギン酸の変動

ラッテをエーテルで麻酔したのち氷水で 20°C まで表面冷却し、20°C で気管切開をおこない、心停止まで人工呼吸をおこないながら、ドライアイス・メタノール液で冷却し、0°C に 5~10 分間放置したのち、温水浴で加温した。加温中心搏動がみとめられると人工呼吸をはじめ、自発呼吸回復後は補助呼吸をおこなつた。

20°C で心搏動回復群及び心搏動非回復群,25°C ~30°C で心搏動及び自発呼吸回復群,心搏動回復 自発呼吸非回復群,心搏動及び自発呼吸非回復群について3アミノ酸を測定した(表3).

第1項 心搏動回復群

GABA は $29.9\pm10.3\,\text{mg}/100\,\text{g}$, グルタミン酸は $68.6\pm13.0\,\text{mg}/100\,\text{g}$ で,アスパラギン酸は $60.5\pm11.7\,\text{mg}/100\,\text{g}$ であつた(表 3).

第2項 心搏動非回復群

GABA, グルタミン酸, アスパラギン酸はそれぞれ, 25.0 \pm 5.3 77.1 \pm 8.6 58.4 \pm 8.6 mg/100 g であつた (表 3).

第3項 心搏動・自発呼吸回復群

GABA は $25.3 \pm 4.1 \,\text{mg}/100 \,\text{g}$ グルタミン酸は $64.8 \pm 11.9 \,\text{mg}/100 \,\text{g}$ アスパラギン酸は $47.4 \pm 7.1 \,\text{mg}/100 \,\text{g}$ であつた(表 3).

関

表 3 加温過程での大脳皮質遊離 GABA, グル タミン酸, アスパラギン酸量 (mg/100g)

	こノ殴, アスノ	ヘフキン酸質((IIIg/ 100g)		
Rat No.	GABA	グルタミン酸	アスパラ ギン酸		
心搏動回復群 (20°C)					
	15	54	56		
\mathbf{H}_1	12	56	39		
	14	90	49		
	44	81	72		
H_2	44	86	82		
	32	56	70		
	28		51		
Нз	38	56	63		
	42	70	63		
平均值	29.9±10.3	68.6±13.0	60.5±11.7		
心搏動詞	作回復群(20°	C)			
	24	60	58		
A 1	32	60	54		
	12	60	51		
A 2	27	56	57		
	32	60	66		
A 3	27	51	54		
	32	113	77		
	21	113	51		
A 4	18	121	57		
平均值	25.0±5.3	77.1±8.6	58.4±8.6		
心搏動,	自発呼吸回復	[群			
81	32	70	54		
91	19	76	52		
S ₂	32	78	39		
15 Z	36	100	57		
	27	67	38		
និន	19	51	38		
	17	51	36		
	34	5 0	66		
S 4	26	4 9	56		
	21	40	54		
9 -	18	10 0	45		
S 5	19	95	39		
	28	51	44		
S ₆	28	60	57		
	24	35	36		
平均值	25.3±4.1	64.8±11.9	47.4±7.1		

心搏動回復, 自発呼吸非回復群

心搏動回復,自発呼吸非回復群			
	32	96	42
hi	40	96	44
	24	81	63
h ₂	20	※ 51	51
	36	75	36
	21	105	66
hз	24	※ 130	64
	19	76	49
平均値	27.0±6.6	88.0±12.5	52.0±9.0
 心 搏 動,	自発呼吸非回]復群	
	19	※ 51	44
uı	20	80	47
	32	78	39
u2	36	100	57
	38	110	60
ug	32	105	49
	24	81	51
u4	24	105	60
	27	75	47
	36	※ 56	57
u5	36	※ 56	66
平均值	29.4±5.1	91.9±9.4	52.7±4.5

※: Thompson の棄却検定法で棄却

第4項 心搏動回復·自発呼吸非回復群

GABA, グルタミン酸, アスパラギン酸 含有量は それぞれ, $27.0\pm6.6~88.0\pm4.5~52.0\pm9.0\,\mathrm{mg}/100\,\mathrm{g}$ であつた (表 3).

第5項 心搏動·自発呼吸非回復群

GABA が $29.4 \pm 5.1 \,\text{mg}/100 \,\text{g}$ グルタミン酸が $91.9 \pm 9.4 \,\text{mg}/100 \,\text{g}$ アスパラギン酸が $52.7 \pm 4.5 \,\text{mg}/100 \,\text{g}$ であつた (表 3).

第6項 小 括

20°C における 3 アミノ酸量はすべて冷却時の同温のさいの量に比べて少ない。 GABA を除くと 25 ~ 30 °C での含有量も冷却時に比べて少なく,統計学的にも有意の差が認められた (\boxtimes 6, 7, 8).

20°C の心搏回復群と 25~30°C の心搏動回復・ 自発呼吸非回復群及び心搏動・自発呼吸回復群, 20°C の心搏動非回復群と25~30°C の心搏動・自発 呼吸非回復群とを対応させて, 20°C と25~30°C で,

図 6 加温過程での大脳皮質遊離CABA量

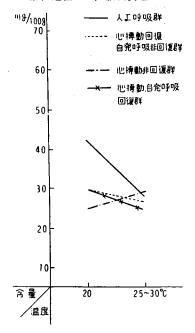


図 7 加温過程での大脳皮質 遊離グルタミン酸量

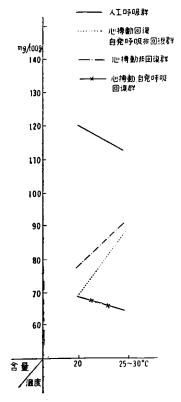
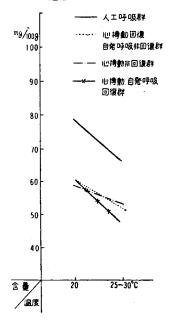


図8 加温過程での大脳皮質 遊離アスパラギン酸量



各アミノ酸含有量の変化を比較すると、統計学的に有意の差が認められたのは、20°Cの心搏動回復群と25~30°Cの心搏動回復・自発呼吸非回復群のグルタミン酸量の増加と、20°Cの心搏動回復群と25~30°Cの心搏動・自発呼吸回復群のアスパラギン酸量の減少のみである(図6、7、8).

25~30°C で心搏動回復・自発呼吸非回復群と心 搏動,自発呼吸非回復群とは3アミノ酸すべてにつ いて類以した値を示すのに対し,心搏動・自発呼吸 回復群のみは異つた値を示した。即ち心搏動・自発 呼吸非回復群ではグルタミン酸含有量が加温で増加 するのに対し,心搏動・自発呼吸回復群では減少す るが,統計学的には有意義な差はない。アスパラギ ン酸も,心搏動・自発呼吸回復群では減少し,20°C での心搏動回復群の量とは有意の差を示している (図 6, 7, 8)。

25~30°C の心搏動回復・自発呼吸非回復群と心搏動・自発呼吸回復群とではグルタミン酸、アスパラギン酸に有意の差を示し、後群の含有量が前群に比べて少ない、20°C の心搏動回復群と比較するとグルタミン酸では心搏動回復・自発呼吸非回復群で増加し、心搏動・自発呼吸回復群では不変、アスパラギン酸では心搏動・自発呼吸非回復群で不変、心搏動・自発呼吸回復群で減少している。即ち自発呼吸回復は心搏動が回復しない群及び心搏動があつて

も自発呼吸が回復しない群に比較して、グルタミン酸は増加せず一定の値を持続し、アスパラギン酸は減少することを示し、心搏動の有無そのものは3アミノ酸の含有量に何んらの影響をおよばさず、自発呼吸の有無のみがグルタミン酸、アスパラギン酸に影響を与えることを示している(図6,7,8).

第6節 チトクローム C 投与群の大脳皮質遊離 GABA, 遊離グルタミン酸, 遊離アスパラギン酸の変動

ラッテをエーテルで麻酔中、尾静脈よりチトクローム C を kg 当り 25 mg 注入し、冷却による大脳皮質遊離 GABA、グルタミン酸、アスパラギン酸の変動に対するチトクローム C の影響を調べた.本群では 19°C 以下の冷却では 20°C で気管切開をおこない、補助、人工呼吸をおこなつた(表4).

表4 チトクローム C 使用群の大脳皮質遊離 GABA, グルタミン酸, アスパラギン 酸量 (mg/100g)

Rat No.	GABA	グルタミン酸	アスパラ ギ ン 酸
常温			
	36	120	69
Τı	32	159	69
	36	120	64
T 2	36	120	64
	36	110	60
	44	125	※ 100
T3	40	100	85
	40	※ 60	77
	※ 13	121	54
T 4	32	121	63
	24	133	54
平均值	35.6±3.8	122.9±11.4	65.9±6.4
20°C			
	38	125	77
T 5	32	125	79
	39	137	75
_	33	96	79
Т6	38	108	82
	36	96 -	72
Т7	36	155	77
	38	144	86

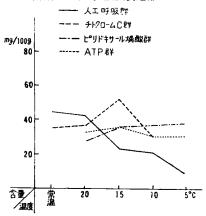
Т8	※ 66	96	79
18	※ 75	113	80
	36		60
Т9	※ 63	※ 51	69
	51	※ 40	6 0
平均值	37.3±5.6	118.5±7.7	74.3±7.1
15°C			
	32	132	91
T 10	32	130	79
	36	118	86
	59	118	66
T11	47	100	66
	44	※ 6 0	79
	56	130	95
T 12	60	152	91
	54	147	91
	68	117	91
T 13	57	96	89
	60	100	93
T 14	57	108	91
_	70	130	89
T 15	63	140	100
平均值	53.0±7.8	122.7±3.4	86.4±16.5
10°C			
	36	113	82
T 16	28	110	83
	32	161	88
	13	152	86
T 17	፠ 8	161	92
	※ 2	175	79
	17	175	96
T 18	13	172	99
T 18	13 19	172 121	84
T 18		121	
T 18	19	121	84
	19 50	121 ※ 40	84 ※ 57
	19 50 44	121 ※ 40 86 86	84 57 72 84
T 19	19 50 44 47	121 ※ 40 86 86 95	84 ※ 57 72 84
	19 50 44 47 40	121 ※ 40 86 86	84 × 57 72 84 79

※ Thompson の棄却検定法で棄却

第1項 遊離 GABA

常温での GABA 含有量は対照群の常温含有量よりやや少く、 35.6 ± 3.8 mg/100gであつた。20°Cでは対照群とほば等しく 37.3 ± 5.6 mg/100g、15°Cでは更に増加し、 53.0 ± 7.8 mg/100g と最高値を示した、以後は減少し、10°Cでは 32.5 ± 7.4 mg/100gであつた(図9)

図9 薬剤投与群の大脳皮質遊離 GABA



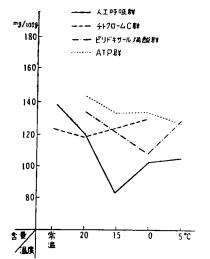
第2項 遊離グルタミン酸

常温及び 20° C での含有量は夫々 122.9 ± 11.4 mg/100g, 118.5 ± 7.7 mg/100g で対照群のそれとは統計学的に有意の差はない. 15° C での含有量は 122.7 ± 3.4 mg/100g で,人工呼吸群にみられた一時的減少を示すことなく,ほぼ一定値を保ち,低温による変動をほとんど示さなかつた(図 10).

第3項 遊離アスパラギン酸

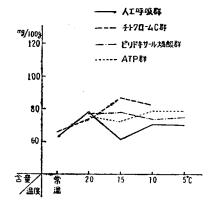
体温の低下とともにアスパラギン酸含有量は

図10 薬剤投与群の大脳皮質遊離グルタミン酸



20°C で 74.3 ± 7.1 mg/100g と多少増加し、15°C では更に増加し、 86.4 ± 16.5 mg/100g となつた。以後はほぼ一定で、10°C で 83.3 ± 4.1 mg/100g であった(図 11).

図11 薬剤投与群の大脳皮質遊離アスパラギン酸



第4項 小 括

チトクロームC 投与群の GABA 含有量は常温では対照群に比べて少なく、 20° C では差がなかつた。人工呼吸群では 20° C をピークとして GABA 含量が減少するのに反し(図 3)。チトクローム C 群では GABA 含有量減少の開始温が 5° C 低く、 15° C まで増加し、以後減少した。又チトクローム C 群の 15° C での含有量と対照群の 20° C での含量を比較すると、チトクローム C 群の 15° C での含量が多かった(図 9)。

グルタミン酸では対照群の常温及び 20°C の含有量と有意の差はなかつた。但し人工呼吸群では 15°C でグルタミン酸含量が急激に減少するのに対し,チトクローム C 群では減少 せず,一定で,人工呼吸群に みられた 低温による変動を示さなかつた (図 10).

アスパラギン酸は両群ともに 20° C まで増加した. 15° C で人工呼吸群では一時的に減少したのに対し,チトクローム C 群では更に増加し,人工呼吸群とは有意の差を示した。 10° C でもチトクローム C 群のアスパラギン酸含有量は人工呼吸群の含有量に比べて大であつた(図11).

第7節 ピリドキサール燐酸投与群の大脳皮質遊離 GABA, 遊離グルタミン酸,遊離アスパラギン酸の変動

エーテルで麻酔中,尾静脈よりピリドキサール燐酸 5 mg を注入し,直腸温 20°C, 15°C, 10°C, 5°C で大脳皮質遊離 GABA, グルタミン酸,アスパラギ

ン酸を測定した (表 5)。 19° C 以下の冷却では 20° C で気管切開をおとない,心停止まで補助ならびに人工呼吸をおとなつた。

表5 ビリドキサール燐酸投与群の大脳皮質遊離 GABA, グルタミン酸, アスパラギン酸量 (mg/100g)

Rat	0.15:	グルタ	アスパラ		
No.	GABA	グルタミン酸	ギン酸		
20°C					
	24	184	82		
\mathbf{P}_{1}	32	118	77		
	32	171	89		
	68	70	72		
P 2	※ 71	100	88		
	※ 82	95	87		
	24	125	74		
P3	19	100	70		
	19	78	57		
	36	164	86		
P4	3 2	171	79		
	32	151	82		
•	14	120	77 57		
P5	14	135	84		
	24	182	98		
P ₆	24	95	57		
	24	141	74		
	36	148	74		
P7	32	133	72		
	32	145	74		
	20	167	79		
P8	32	179	77		
	19	155	84		
平均值	28.0 ± 5.1	134.2±16.5	78.0±1.4		
15°C					
	47	155	. 84		
P9	47	91	84		
	36	148	82		
P 10	36	130	89		
	40	155	98		
	19	90	79		
P11	24	71	77		
	19	71	70		

	71	137	99
P 12	63	113	96
	71	120	64
	51	120	84
P 13	60	104	82
	63	114	79
	21	114	72
P 14	19	151	66
	19	158	82
P 15	3	110	57
	33	110	66
P 16	40	138	79
	34	138	69
平均值	36.4±11.9	120.8±12.3	78.4±6.6
10°C	·	-	
	42	※ 170	96
P 17	47	121	63
	50	112	57
	57	80	44
P 18	68	100	54
	66	95	99
	24	97	73
P 19	19	105	82
	24	66	72
	24	110	88
P 20	68	113	94
	68	117	91
	24	90	63
P_{21}	28	121	69
	28	113	72
	36	95	73
P 22	36	80	63
	28	100	72
-	9	121	60
P 23	14	113	64
P 24	36	121	74
1 24	32	100	70
	38	138	83
P 25	28	134	79
	19	119	74
平均値	1	107.1±4.4	74.5 ± 0.6

_	o	^
Э	-	٧.

D.,	33	147	74
P 26	47	125	89
	40	135	74
P 27	36	12 5	74
	36	110	66
平均値	38.4±5.8	128.4±20.9	75.4±9.8

※: Thompson の棄却検定法で棄却

第1項 遊離 GABA

 20° C での遊離 GABA 含有量は,人工呼吸群よりやや少なく $28.0 \pm 5.1 \,\mathrm{mg}$ で,以後体温が低下しても GABA の含量はほぼ一定であつた(図 9).

第2項 遊離グルタミン酸

 20° C での遊離グルタミン酸含有量は 134.2 ± 15.5 mg/100g で体温低下とともに 10° C まで減少し、 107.1 ± 4.4 mg/100g となり、以後増加し、 5° C では 128.4 ± 20.4 mg/100g であつた (図 10).

第3項 遊離アスパラギン酸

体温が低下してもほぼ一定値を保ち、 20° C では $78.0\pm1.4\,\mathrm{mg}/100\,\mathrm{g}$ であつた(図 11).

第4項 小 括

20°C 以下では,人工呼吸群の遊離 GABA 含有量 が体温低下とともに減少するのに反し,ピリドキサ ール燐酸群ではほぼ一定値を保つた.

遊離グルタミン酸は,人工呼吸群で 15° C まで減少するのに対し,ピリドキサール燐酸群では 10° C まで減少し,以後増加した。ピリドキサール燐酸群のグルタミン酸含有量は人工呼吸群に比べ, 15° C と 5° C で大であつた。

遊離アスパラギン酸は GABA と同じく,体温が低下してもほとんど一定で,人工呼吸群にみられた 15° C での減少がなかつた(\boxtimes 9, 10, 11).

第8節 ATP 投与群の大脳皮質遊離 GABA,遊離グルタミン酸,遊離アスパラギン酸の変動

ェーテル麻酔中、尾静脈よりアデノシン(2cc 中ATP 10mg 含有)0.5cc を注入し、直腸温 20, 15, 10, 5°C で遊離 GABA, グルタミン酸、アスパラギン酸含有量を測定した(表 6)。19°C 以下の冷却では 20°C で気管切開をおこない、補助ならびに人工呼吸を心停止までおこなつた。

表 6 ATP 使用群の大脳皮質遊離 GABA, グル タミン酸、アスパラギン酸量 (mg/100g)

g	ミン酸,アス	パラギン酸量	(mg/100g)
Rat No.	GABA	グルタミン酸	アスパラ ギ ン 酸
20°C	V		
	28	130	70
Bı	28	148	77
	36	151	86
	40	145	84
B 2	44	158	84
	36	144	74
	24	※ 95	60
Вз	30	121	66
	32	167	82
平均值	33.1±4.7	143±26.8	76.1±4.3
15°C			
	48	137	74
B4	38	130	69
	44	121	60
	38	137	77
В5	36	112	79
	40	140	77
	20	130	62
В6	32	133	77
	30	149	89
平均值	36.2 ± 6.1	132.1±18.5	73.7±2.2
10°C			
	36	※ 76	54
В7	44	120	77
	40	140	91
B8	32	140	82
	32	125	96
	24	113	73
Вя	28	146	79
	20	146	82
平均值	32.0±6.9	132.8±15.0	79.2±10.3
5°C			
5°C			
	44	95	64
	44	95	64 99
	1	1	<u> </u>

関

	32	95	64
B 12	32	145	94
	18	157	87
平均値	32.3±8.2	126.8±16.1	79.4±13.4

第1項 遊離 GABA

体温が低下しても、遊離 GABA 含有量にはほとんど差はなく一定で、 20° C では 33.1 ± 4.7 mg/100g であつた(図9).

第2項 遊離グルタミン酸

遊離グルタミン酸含有量は体温低下には関係なく、 ほぼ一定値を示し、 20° C では 143.0 ± 26.8 mg/100g であつた。 15° C での含有量減少はなかつた (図10).

第3項 遊離アスパラギン酸

アスパラギン酸量は体温が低下しても、ピリドキサール 燐酸 と同じく、ほぼ一定で 20° C では $76.1 \pm 4.3 \, mg/100 \, g$ であつた。 15° C での変量はなかつた(図11).

第4項 小 括

GABA はピリドキサール燐酸群とほぼ同じ変化を示し、人工呼吸群にみられる体温低下にともなう GABA 含有量の減少はなかつた。

グルタミン酸は 20° C で人工呼吸群に比べ、含有量が多く、人工呼吸群でみられる 15° C での急激な減少はなく、緩慢な減少の傾向を示し、 5° C での含有量も人工呼吸群に比べて大であつた.

アスパラギン酸はピリドキサール燐酸群と同じく、ほぽ一定の値を示し、人工呼吸群の 15° C での減少、チトクローム C 群での増加のような変化はなかつた (図9, 10, 11).

第4章 考 案

低体温の研究で、重要臓器の一つである脳の低体 温時の変化を知ることは極めて重要であり、すでに 多数の研究がある。しかし脳の機能及び代謝ともつ とも関係があるといわれている脳遊離アミノ酸の低 体温下での変動に関しての研究はない。

脳組織蛋白はもちろん,種々の組織蛋白の組成アミノ酸の種類及び含有量はほとんど一定しているのに,脳遊離アミノ酸の種類及び含有量は著しく異つている9(表 7).

脳の遊離アミノ酸は表7に示す如く酸性アミノ酸, ことにグルタミン酸系アミノ酸であるグルタミン酸, グルタミン, GABA とアスパラギン酸が脳

表 7 脳蛋白アミノ酸および遊離アミノ酸 (Knauff による)

アミノ酸	蛋白アミノ酸 (mg/g)	遊離アミノ酸 (mg/g)
アラニン	5.87	6.08
アスパラギン酸	7.34	22.61
グルタミン酸	14.91	175.6
GABA	0	45.0
グリシン	4.15	14.6
セリン	5.07	6.97
トレオニン	5. 2 0	4.23

遊離アミノ酸の%を占めており、しかも各種属間にほとんど差がない8). 更に個体発生学的にみても、脳遊離グリシン、アラニン、セリン、フェニルアラニンなどの含有量は、生直後に比べ成熟後は減少するが、グルタミン酸は成熟期には乳児期の2倍以上に増加し、グルタミン、アスパラギン酸も2倍近く増加する12)またグルタミン酸、GABAは脳機能発現時期にその含有量が飽和に達するという13). 脳遊離アミノ酸の種類及び含有量は血清、脳脊髄液組成とも異つており、しかも血液中のアミノ酸の変動に対して、肝、腎、筋肉などに比べ、はるかに影響をうけにくい140、すなわち脳遊離アミノ酸組成維持の自律性も脳組織の特異性の一つである.

脳遊離アミノ酸中,多量に含有されているアミノ酸はいずれもグルコースから代謝的に合成されうる。グルコースより合成されたグルタミン酸は、アミノ基転移によりアスパラギン酸となり、脱炭酸反応で GABA となり、グルタミン酸のアミド形成でグルタミンが生じる(図 12)。 このことは脳遊離ア

図12 グルタミン酸の代謝図



ミノ酸が脳代謝とも密接な関係を有し、脳機能発現のためのエネルギー源ともなりうることを示している。 塚田らは Cl4 でラベルしたグルコースをラッテの腹腔内に注射し、脳組織の Cl4 でラベルしたグルコースをラッテの腹腔内に注射し、脳組織の Cl4 含

有量を検索しているが,グルコース,乳酸以外にグ ルタミン酸, グリシン, アスパラギン酸, GABA, アラニンに Cl4 の放射能が見られ8), その強さは, グ ルタミン, グルタミン酸, アスパラギン酸, GABA の順で、アミノ酸が脳組織全 C14 含有量の70%を占 めている、これに比べ、肝へのとりこみは少なく、全 放射能の30%以下である15). 但し C14 の蛋白分画へ のとりこみは脳、肝ともに極めて僅かであつたとい う. またネコの灌流実験で灌流血中に C14-グルコー スを加えると、20分ですでに脳遊離アミノ酸中にか なりな量の C14 がみとめられ、30分頃よりさらに増 加し、50分でだいたい飽和に達し、やはりグルタミ ン酸、アスパラギン酸およびそれから代謝的に合成 されるアミノ酸に C14 が多かつたという9)、脳切片 でも同様の現象がみられ、ラッテの脳切片を C14 グ ルコース, K+ を含む溶媒中で incubate すると, グ ルタミン酸, グルタミン, アスパラギン酸, GABA などに C14 がみられ,ダルタミン酸,グルタミン, GABA のカウント比が1:0.44:0.27 であり、実 際の遊離アミノ酸含有量比 1:0.5:0.2 に近い値 を示している⁹⁾、このように脳内遊離アミノ酸は糖 より旺盛に新生され、その代謝の様相も他臓器に比 べ,かなり特異的である.また同じ神経組織でも未 梢神経線維や自律神経節神経細胞にはこのような特 異なアミノ酸蓄積はないといわれている9).

アミノ酸の分離定量法にはペーパークロマトグラ フィー,カラムクロマトグラフィー法があり,カラ ムクロマトグラフィー法は多量の試料と試薬を必要 とし、測定に長時間を要し不便な点が多い。脳内遊 離アミノ酸では GABA, グルタミン酸, グルタミン およびアスパラギン酸が多く、全アミノ窒素の80% を占めており、適当な溶媒を用いると、ペーパーク ロマトグラフィーでも分離が容易であり、少量の試 料で比較的短時間に試料の処理が出来る.塚田の方 法10) によると,水飽和フェノールで一次元展開を おこなつた場合,アスパラギン酸,グルタミン酸, タウリン, あるいはグリシン, グルタミン(アラニ ン) および GABA の5個のアミノ酸スポットが著 明な着色反応を示す。但し一次元展開法の欠点とし て、スポットが互に重なり合うアミノ酸が存在する ことである. 即ちアスパラギン酸にはグルタチオ ン、グルタミン酸にはセリン、エタノールアミン、 リン酸, N-アセチルアスパラギン酸, GABAにはロ ィシン,メチオニン,バリン,リジン,トリプトフ ェン、フェニルアラニンであるが、これら重なり合うアミノ酸はグルタミン酸、アスパラギン酸、GABAに比べ、脳組織内では 1/10 以下であり、とくに一段発色法の場合には発色感度の悪いものが多く、測定誤差に入り、誤差範囲は 5 %以下であり、脳遊離アミノ酸測定には、塚田の方法による一次元展開法ペーパークロマトグラフィーで十分と報告している

常温での脳遊離 GABA 含有量は成瀬9) らによる と人で23.9 ネコで23.4 マウスで23.6 mg/100g で ある. Knauff¹⁶⁾ によるとラッテでは 45.0 mg/100g で, 著者の測定では 44.5±4mg/100g であつた. 遊 離グルタミン酸の常温含有量は Knauff¹⁶⁾ によると ラッテで 175.7mg/100g で著者の測定では140.5± 23mg/100g であつた. なお人で 123.2 ネコで 128 マウスででは 144.0 mg/100g といわれる⁹⁾. 遊離ア スパラギン酸含有量は著者では62.8±5mg/100g で あり、Knauff¹⁶⁾ によると 22.6mg/100g で著者の測 定値と相当の差があるが、成瀬9) によるとマウスで 40.0mg/100g 人で 35.1 ネコでは 29.7mg/100g で ある。このような測定値の差のみられる原因の一つ として、著者の常温遊離アミノ酸含有量測定はすべ てエーテル麻酔後に測定されており、エーテル麻酔 による影響も考慮せねばならない.

表面冷却法で体温が低下するときに、25°C まで遊離 GABA、グルタミン酸は減少するが、遊離アスパラギン酸はほぼ一定であつた、20°C では3アミノ酸すべてが増加した、但し統計学的にはグルタミン酸変量に有意の差がみとめられなかつた。Bering「7)は脳酸素消費量は冷却とともに低下するが31~27°Cで極めて著明に減少し、27°C 以下であまり変動がなく、又30°C以下では動静脈血糖較差が著明に減少するので脳糖代謝の高度の低下が考えられ、結局代謝面からみれば低体温法の限界は27°C としている。

脳波に関しては、 30° C までの低温では脳波に明らかな変化はみられないが、体温が下降するにつれて振動数、振幅共に減少し18)、 25° C 前後で著明な除波があらわれ18)、振幅も減少す 3^{18})、脳温 $23\sim 20^{\circ}$ C で平坦化の傾向を示し、 $19\sim15^{\circ}$ C で平坦とな 3^{20})、石合 2^{10})によれば脳波の消失する温度は 17° C 前後が最も多いという。

アミノ酸変動の面からみると GABA が減少より 増加に、グルタミン酸が減少より一定に、アスパラ ギン酸が一定値より増加にうつる 25°C 前後で脳波 に著明な除波が出現し、酸素消費量及び動静脈血糖 較差が著明に減少する。25°C以下20°CまでGABA, アスパラギン酸は増加し、グルタミン酸はほぼ一定 であるが、脳波は平坦化の傾向を示し、20°C以下 で補助呼吸をおこなつた場合には、3アミノ酸はす べて再び急激に減少し、脳波は平坦となり、15°C 以下ではグルタミン酸は再び増加し、アスパラギン 酸はほぼ一定で、GABA は更に減少する。insulin 投与で血糖値を25mg/dl位に低下させ、昏睡状態 になつた時の脳遊離アミノ酸の変動は特異で、グル タミン酸、GABA、グルタミンなどが低下し、アス パラギン酸とエタノールアミンが上昇するといわれ る22)

上述の低血糖時のアミノ酸の変化と酸素消費量な らびに動静脈血糖較差の著明な減少をあわせ考慮す ると, 体温 25°C までのグルタミン酸, GABA の減 少は、グルコースの利用不足による変量と考えられ る. 脳での酸化が確実にみとめられているのはグル タミン酸とその代謝産物の GABA だけである9). グルタミン酸の酸化はグルタミン酸脱水素酵素によ り DPN を補酵素としておこなわれ、α-ケトグルタ ル酸とアンモニヤを生ずる²³⁾. しかし脳での DPN-DPNH₂ およびアンモニヤ量などの条件によつては 容易に逆反応が進行し, α·ケトグルタール酸とアン モニアから容易にグルタミン酸を生成する9)、この グルタミン酸酸化は K+の存在で増強され、グルコ ースの 附加でさらに 促進される24) 但し グルコース がないときの内在呼吸は大部分はグルタミン酸に由 来しているといわれる9) グルタミン酸が脱炭酸され てできる GABA は、GABA-α-ケトグルタル酸トラ ンスアミナーゼにより, α-ケトグルタール酸にアミ ノ基が転移され, コハク酸セミアルデヒドとなり, さらにアルデヒド脱水素酵素と補酵素 DPN により コハク酸へと完全酸化をうける(図12)、つまり TCA 回路の α-ケトグルタール酸がグルタミン酸と なり、これが GABA となり、コハク酸を経て完全 酸化される. この経路が GABA-shunt と呼ばれ, TCA 回路に種々の影響を与え、エネルギー産出に 重要な意味をもつと考えられている. しかもこの GABA shunt の代謝は脳灰白質のみにみられる特 異な代謝経路である25)。したがつて脳皮質ではα-ケ トグルタール酸の直接酸化と GABA shunt を通つ ての代謝とが共存し、DPN、α-ケトグルタール酸、 GABA がこの経路のおのおのの速度に関係している と考えられる.

20°C 以下の冷却に際して気管切開,補助,人工

呼吸をおこなわなかつた対照群では、人工呼吸群 比べ, 15°C 以下では3アミノ酸すべての含有量 が多く,グルタミン酸では人工呼吸群でみられた 15°C での急激な減少がなく、GABA が 10°C で著 明な増加を示していることは図2に示す如く,自発 呼吸は15°C までにほとんど停止することから, グ ルタミン酸, GABA, アスパラギン酸の3アミノ酸 はすべて代謝に利用されなかつたことを示している といえる. なお Ansell²⁶⁾ らは脳組織を短時間放置 すると脳組織内のアミノ酸量が急激に増加するとい い, これは脳組織内に死後急速におこる proteolytic activity が存在するためと説明し、ラッテの実験で 脳組織を0°C に保つた場合には発生しないが、37°C に incubate すると直ちに proteolytic activity がお こり、1時間~1時間半持続するという、またペー パークロマトグラフィーによる測定でグルタミン酸, アスパラギン酸などの増加がみられたと報告してい る. 本実験対照群の 15°C からの GABA, アスパラ ギン酸, 10℃ からのグルタミン酸増加は, 15℃ ま でに呼吸が停止することを考え合せると、Ansell26) らのいう proteolytic activity のための増加と考え られる.

人工呼吸群の GABA では5°C まで,グルタミン 酸およびアスパラギン酸では 10°C まで それぞれの 含有量に変動がみられたことは、少なくとも5°Cま で代謝又は前述の proteolytic activity が存在したこ とを示すと考えられるが,0°C まで冷却後,0°C に 5~10 分間放置し加温した場合,後述の如く自発 呼吸が回復したことは呼吸中枢がある延髄に proteolytic activity があつたとはいいにくく, 代謝が まだ存続していたと考えるのが妥当かと思われる. 前述の如く Bering7) は脳酸素消費量 および 動静脈 血糖較差の点より低体温法の限界を27°C としてい るが, 1954年 andjus2) はダイコクネズミを5°C ま で冷却し,80~100%の長期生存率をえたことを報 告し, Gollan3), Rush27) および Bernhard28) は夫夫 犬で0°C, 4°C および8°C まで冷却し, 脳に障碍 をみとめなかつたといつている.

しかし逆に超低体温が脳に障害を及ぼすと報告している研究者も多い. Jensen4) らによると $12\sim18^{\circ}$ C での冷却では神経学的変化がみられなかつたのに反し、 $8\sim12^{\circ}$ C での冷却では変化がみとめられたといい, $Bj\ddot{c}rk^{5}$)らも 12° C 以下では脳障害が高率に発生したという. Nancy 54)も 12° C 以下の冷却で脳障害を高率にみとめ, 20° C での脳酸素消費量は常温の

25%で、脳温がさらに低下し、10°C になつても脳酸素消費量の低下は軽度で、臨床的には脳温 20°U 以下の冷却、特に 15°C 以下の冷却は無意味としている。Valadmirox ら6)も 超低体温時には酵素系の抑制により phospholipid、lipoprotein の変化がおこると報告している。Björk5)は超低体温に伴う脳障害は血管内における血小板の凝集によるといい、Lourie²⁰⁾は猫、犬では 8°C で血液脳関門が破壊されると報告している。しかし Dubost7)らは 12°C以下の超低体温を行つた 2 例に脳障害をみとめなかったと報告している。

著者の大脳皮質遊離アミノ酸含有量の測定結果では、常温から 25° C まで、 25° C から 20° C まで、 20° C から 15° C まで、および 15° C から 10° C の間でそれぞれ各アミノ酸含有量が異なり、前述の各温度間で脳に機能的および代謝的変動があり、これらのいずれに重点をおくかにより、低温下の脳機能及び代謝の限界について諸家の見解に相違がみられるものと思われる(図 3, 4, 5).

20°C で気管切開をおこない、補助および人工呼 吸をおこないながら0°C に冷却し,0°C に5~10分 間放置したのち,温水浴で 20℃ まで加温したラッ テの遊離 GABA 含有量は5°C 以下の人工呼吸群の それより増加し、遊離グルタミン酸は減少し、遊離 アスパラギン酸には変動がなかつたことは、加温過 程で GABA が増加し、グルタミン酸は減少し、ア スパラギン酸量は不変であつたことを意味する。即 ち GABA が加温により第一に冷却時の同温の含有 量に復帰する. 又冷却過程の人工呼吸群と加温過程 の同温での含有量は, 25~30°C の GABA 含有量以 外では人工呼吸群の方が多い。これはまだ低温がア ミノ酸代謝に影響していることを示しているのであ ろう。 しかし GABA のみが 25~30°C で人工呼吸 群 GABA 含有量まで回復していることは興味深い ことである。GABA のみが脳の灰白質に存在し、 他組織に存在しないこと30),加温時に低温によるア ミノ酸代謝の影響のなかで冷却時の値に第一に復帰 することを考え合せると、GABA は脳組織にとつ て極めて重要であり、GABA 含有量保持機構がす べてに優先すると解することが出来るのではなかろ うか.

20°C での心搏動回復群及び非回復群,25~30°C での心搏動・自発呼吸回復群,心搏動回復・自発呼吸非回復群,心搏動・自発呼吸非回復群それぞれの各アミノ酸含有量を,20°C での心搏動回復群と

25~30°C の心搏動回復・自発呼吸非回復群 および 心搏動・自発呼吸回復群と, 20°C での心搏動非回 復群と 25~30°C での心搏動・自発呼吸非回復群と をそれぞれ対応させ、比較すると、25~30°C の心 搏動・自発呼吸回復群のみが異つた変動を示した。 即ち同群では、遊離グルタミン酸が増加せず、遊離 アスパラギン酸は減少している. しかし実際には25 ~30°C での心搏動回復・自発呼吸非回復群のアス パラギン酸含有量と同温の心搏動・自発呼吸回復群 のそれとの差は少なく, 現実に有意の差があるかど うかは疑問である (図 6, 7, 8). 即ち 同温で心搏動 のみが回復し, 自発呼吸が回復しなかつた群と心搏 動、自発呼吸ともに回復した群では遊離グルタミン 酸量に著明な相異があり,後者の含有量が少ない. 遊離アスパラギン酸も後者が少ないが、実際にはそ の差は有意かどうかは疑問である.

脳の遊離アミノ酸,特に GABA, グルタミン酸, アスパラギン酸は前述の如く脳機能との密接な関係 が推定されているが、実際にいかなる機能を有する かについては現在ほとんど知られていない。GABA は一般的には脳に対し抑制的作用を有しているとい われているが、さらに高橋31) らは血圧および呼吸 運動に関与していると報告し、GABA の静脈内投与 により呼吸数がまず減じ、次に数分間にわたつて回 数および深さが増加するといい、作用点は延髄であ るという. しかしグルタミン酸塩ではこのような作 用は認められなかつたと報告している。グルタミン 酸,アスパラギン酸に関しては伊藤32)らが局所注 入により皮質性間 代痙 攣を おこし得ると報告して いるがそれ以上については不明である。前述の如く 冷却時の呼吸停止は多くは18~15°C であり(図2). 脳波 も石合²¹⁾ によると 17°C 前後で消失するとい う. 大脳皮質遊離アミノ酸は冷却時20°C で GABA. アスパラギン酸は減少より増加にうつり、グルタミ ン酸は減少より不変となり、更に 15℃ で 3 アミノ 酸すべてが急激に減少することは 25~20°C と 20~ 15°C 間でアミノ酸代謝に急激な変化がおこつてい ることを示すと思われる. しかし自発呼吸回復のみ でなぜグルタミン酸が減少するかは不明である.測 定部位は大脳皮質であり,呼吸中枢は延髄にあると とからグルタミン酸を直接呼吸能に関係づけるより はむしろ二次的にエネルギー源として利用されたか、 超低体温後のアミノ酸代謝の変動による結果と考え るのが妥当かと思われる.

人工呼吸群での遊離 GABA 含有量は 25℃ まで

減少し、20°Cで一時増加し、更に減少する(図3). チトクローム C 使用群ではこの一時的増加が 15°C でおこり、しかも含有量は人工呼吸群の 20°C での一時的増加時の含有量よりも多い、即ちチトクローム C 投与により GABA の減少が約5°C おくれ、かつその程度も軽くなつている。グルタミン酸では人工呼吸群の 15°C での減少がない、またアスパラギン酸でも低温での増加が5°C 長くつづくことはチトクローム C が低温での脳代謝に有利に働いていることを示すものと思われる(図 9, 10, 11).

チトクローム C は 1886年 MacMunn³³⁾ が動物の 筋肉組織中にミオヘマチンを発見したことに端を発 し、Keilin34)らが詳細に研究し本態を明らかにした 細胞呼吸酵素であり、動物界のみならず広く植物界 にも存在し、現在 &, b, c, c1 の 4 種が知られている. このうちチトクローム C は分子量 12,398 でへムと 蛋白質より成る350. 生体のエネルギーは糖,蛋白質, 脂肪が TCA 回路を経て究極的には水素を生じ,一 方, 呼吸によつて摂取した酸素と結合して水を生ず る過程のうちに生ずるが、チトクロームC はその ヘム部分の中央の鉄が2価と3価とに可逆変化する ときに電子伝達をおこない、酸素を活性化すること により水素との結合を円滑化するにある. 即ち還元 型チトクロームC は酸素に電子を与えてイオン化 し, 自らは酸化型チトクロームC(Fe+++)となる. これは水素から電子を奪つて活性化水素となし, 自 らは再び還元型 (Fe++) となる、このようにして酸 素と水素を活性化し, その結果水とエネルギーを生 成する過程を司るのである.

しかしながら 分子量 およそ 12,000 の蛋白体が正 常な細胞膜を通過することは不可能と考えられ、 Beinert36) らも放射性チトクロームを用いた動物実 験によつてこれを確かめている。Feinen37) Laborit38) Zapp39) らも同じ見解を述べている. しかし障害さ れた細胞では膜通過の可能性が考えられ、Bernaud ら40) は毒物の投与や酸素欠乏時には細胞膜の透過 性が亢進しチトクロームが 通過するとしている. Feinensの らはチトクローム C を前処置することに よりエビパン麻酔犬の血中焦性ブドウ酸増加を抑制 し, また Boden ら41) は酸素欠乏状態で増量する血 中乳酸量を著明に低下させることから、炭水化物分 解における燐酸酸化過程に促進的影響を与えると考 えている. 本邦では相沢42)が人でチトクロームC 投与前後の脳循環消費量の変動を N₂O 法で測定し, 脳血流量、脳酸素消費量が共に増加したといい、

proger43), Costa 44), 塙45) らも酸素欠乏状態に対し 有効であつたと報告していることなどを考えると, チトクローム C の投与により, 低温時でも TCA 回 路の代謝が円滑に進行し, 低体温の脳遊離アミノ酸 におよばす影響の発生を約5°C おくらせたものと 考えられる.

ピリドキサール燐酸投与群および ATP 投与群でも、薬剤を使用しなかつた人工呼吸群に比べ、低体温時でのアミノ酸の変動は少なかつた。両群とも、チトクローム C 群に、類似した変動を示している。即ち GABA では 20~15°C にかけての減少はなくほぼ一定値を示し、人工呼吸群での 15°C 以下の減少はみられない。しかしグルタミン酸については人工呼吸群では 15°C まで含有量が減少するのに比べ、ピリドキサール燐酸群では、10°C まで減少している。しかしその減少量は軽度である。アスパラギン酸では両群とも 20°C よりほぼ一定値を示し、15°C で人工呼吸群にみられた減少、チトクロームC群にみられた増加はなかつた。

ピリドキサールはピリドキサミン, ピリドキシン と共に B6 群の一つでビタミンB 群に属している. ビタミンB 群は生体細胞の呼吸に際して糖質の酸化 過程に不可欠の酵素として極めて重要な意義を有し ており, 脳のアミノ酸代謝の補酵素としても重要な 意義がある。 即ちピリドキサール、ピリドキサミ ン、ピリドキシンは肝で ATP の存在の下に燐酸化 され、ヒリドキサール燐酸、ピリドキサミン燐酸と なり、はじめて補酵素として、アミノ酸代謝、蛋白 代謝,脂質代謝,糖質代謝に関与し,特にアミノ酸 代謝ではアミノ基転移酵素、脱炭酸酵素などの補酵 素としてアミノ酸の分解合成に作用し、このアミノ 酸代謝を通じて TCA 回路と合流し、生体代謝では 極めて重要な作用をおこなつている46)。また脳アミ ノ酸代謝でも B6 は補酵素として重要な役割を果し ている. 脳での GABA の生成は、脳灰白質にのみ 存在し47)、その活性はかなりつよく、白質や未梢神 経その他で見られないグルタミン酸脱炭酸酵素とピ リドキサール燐酸を補酵素としてグルタミン酸から 合成される.

一方 GABA の分解は GABA-α-ケトグルタル酸トランスアミナーゼとピリドキサール燐酸を補酵素としておこなわれ (図12). 脳の遊離 GABA 含有量はこの GABA を生成するグルタミン酸脱炭酸酵素と、分解する GABA-α-ケトグルタル酸トランスアミナーゼとの相関関係によりその量が左右されるが、脱

炭酸酵素は至適 pH が 6.5 トランスアミナーゼは 8.2 であり、細胞内の pH により GABA の生成に 傾いたり、或は分解に傾いたりしうる可能性もあ る13)。またこの両者ともピリドキサール燐酸を補酵 素とするが、脱炭酸酵素はその不足に極めて鋭敏で あり、GABA-α-ケトグルタル酸トランスアミナーゼ はそれほど鋭敏でなく48), ビタミンB6不足により, GABA が減少に傾きやすくなる。一般に低体温下 での体液 pH も多くは酸性に傾いている. したがつ て体液の酸性化とピリドキサール燐酸投与は脳遊離 GABA 含有量の増加をもたらすはずであり、著者 の測定結果でも GABA の低温での減少はみられず, グルタミン酸は10°C まで減少の傾向を示し、人工 呼吸群では15°C まで減少するのに対し,5°C の差 を生じている. さらにピリドキサール燐酸は補酵素 としてグルタミン酸とオキザロ酢酸, α-ケトグルタ ル酸とアスパラギン酸の間にも作用する9).

燐酸化合物は組織に大量存在し、物質の酸化およ びエネルギー交換と密接な関係がある. 燐酸化合物 中にも多量のエネルギーを産出する物質と少量のエ ネルギーを産出する物質とがあり、前者の代表が ATP である49). ATP は 1928年 Lohman が蛙の 筋肉から発見したもので1モル当り7600~7800カ ロリーを放出する、この高エネルギー結合は臨床的 に各方面に応用され、相沢50)、新ら51) は脳血管系 疾患に対する有効性を認めたと報告し、植木52)は ATP の頸動脈内動注で異常脳波を賦活又は正常化 せしめ、ATP が直接、間接に脳血行、脳機能の改 善に役立つと報告している. しかし日下ら63) はそ の効果は不明と報告している. 著者の大脳皮質遊離 アミノ酸測定結果では,GABA とアスパラギン酸 はピリドキサール燐酸投与群とほぼ同じ変化を示し、 グルタミン酸は低温での変量が最も少なく,ATP はチトクローム C,ピリドキサール燐酸に比べ,低 温による大脳皮質遊離アミノ酸の変化を最小限にと どめる作用を有するようである.

第5章 結 語

脳の機能と代謝に最も密接な関係を存すると考えられる脳遊離アミノ酸、特に GABA、グルタミン酸、アスパラギン酸の超低体温下の変動、及び細胞呼吸酵素チトクロームC、補酵素ピリドキサール燐酸、高エネルギー結合を有する ATP の変動に対する影響をラットについて検索し次の結果をえた。

1) 体温が低下するとともに25°C まで遊離 GABA,

グルタミン酸は減少し、遊離アスパラギン酸はほぼ一定値を保つが、 20° C では遊離 GABA、アスパラギン酸が増加し、遊離グルタミン酸は不変であつた(\bigcirc 3,4,5).

- 2) 低温により呼吸が停止したのち、そのまま放置した対照群では遊離 GABA が 10° C で、遊離グルタミン酸が 5° C 以下で増加し、遊離アスパラギン酸はほぼ一定であつた(図3,4,5).
- 3) 人工呼吸群では 3 アミノ酸すべてが 15°C で 急激な減少を示した. 脳遊離アミノ酸含有量変動の様相が常温より 25°C, 25~20°C, 20~15°C, 15~10°C 間それぞれで異なり, 各温度間で脳に機能的及び代謝的変動があるものと思われるが, 脳酸素消費量, 脳波および呼吸などの変化を考慮すると, 25~20°C と 20~15°C 間での脳アミノ酸代謝の変動が最も著明と思われる。
- 4) 人工呼吸群では3アミノ酸すべての含有量が20°C以下の各温度で対照群に比べ,少なかつた. とくに遊離 GABA の減少は著明で,減少の一途であった. 遊離グルタミン酸,アスパラギン酸は10°C以下で再び増加した.
- 5) 加温群の3遊離アミノ酸含有量を同温の冷却時人工呼吸群のそれと比較すると,25~30°Cの遊離 GABA 含有量以外は加温群の含有量が少ない.即ち加温中は3遊離アミノ酸とも冷却時の同温含有量に比べ少ないが,25~30°Cで GABA がはじめて冷却時の含有量に達した.
- 6) 25~30°C での心搏動・自発呼吸回復群,同温の心搏動回復・自発呼吸非回復群および心搏動・自発呼吸非回復群 3 群の遊離アミノ酸を比較すると,心搏動回復・自発呼吸非回復群と心搏動回復・自発呼吸回復群では明らかな差が認められた。即ち前者では統計学的に遊離グルタミン酸,アスパラギン酸量が多い。しかし実際にアスパラギン酸量に有意な差があるかどうかは疑問である。
- 7) 加温群で 20°C での心搏動非回復群と 25~30°C の心搏動・自発呼吸非回復群間, 20°C の心搏動回復群と 25~30°C の心搏動回復, 自発呼吸非回復群間ではいずれも遊離アミノ酸は類似した変動を示すのに対し, 20°C の心搏動回復群と 25~30°C の心搏動・自発呼吸回復群間の遊離アミノ酸は異つた変動を示した。即ち自発呼吸の回復は脳遊離グルタミン酸の増加を不変にとどめ, 遊離アスパラギン酸の減少を大にしたといえるが, 心搏動の有無は脳遊離アミノ酸量にはとくに関係を有しないようであ

る.

- 8) 人工呼吸群の遊離 GABA は 20°C で増加し、以後減少する。チトクローム C 投与群では 15°C で増加し、以後減少する。即ちチトクローム C 群では GABA 含有量増減の変化が人工呼吸群に比べ5°C 遅れている。しかもチトクローム C 群 15°C の GABA 含有量は人工呼吸群 15°C のそれより多い(図9)。人工呼吸群では遊離グルタミン酸が 15°C で急激に減少し、10°C で増加するのに対し、チトクローム C 群では一定である。遊離アスパラギン酸の体温低下にともなう増加は人工呼吸群では 20°Cまでみられるのに比べ、チトクローム C群では15°Cまで認められた。以上の結果よりチトクローム C は脳アミノ酸代謝の低温による影響を約5°C 遅らせるものと考えられる。
 - 9) 補酵素 ピリドキサール 燐酸投与群の 脳遊離ア

文

- 1) Currie; Gibbon, J. H. Jr: Surgery of the Chest, W. B. Saunders, Philadelphia, 1962. より引用。
- Andjus, R. K. et at.: Rivival of Hypothermic Rats after Arrest of Circulation and Respiration, J. Physiol., 123: 66, 1954.
- Gollan, F. et al.: Hypothermia of 1.5°C in Dogs Followed by Survival, Amer. J. Physiol., 181: 297, 1955.
- Jensen, J. M. et al.: Brain Tolerance to Differential Hypothermia and Circulatory Occlusion, Fed. Proc., 13: 75, 1954.
- Björk, V. O. et al.: Brain Damage in Children after Deep Hypothermia for Open Heart Surgery, Thorax, 15: 284, 1960.
- 6) Valadmirox, G. E. et al.: The Rate of Rivival of Phosphorous Compounds of the Brain in Deep Hypothermia, Biochemistry, 24: 818, 1959.
- Dubost, C. et al.: The Association of the Artificial Heart-Lung with Deep Hypothermia in Open Heart Surgery. J. Cardiovasc. Surg., 1: 85, 1960.
- 8) 塚田啓三他:神経化学の進歩特に脳内アミノ酸 代謝の研究, 小児科診療, 24:1269, 昭36.
- 9) 成瀬 浩他:脳組織のアミノ酸,蛋白質核酸酵

ミノ酸の変動は少なく,ピリドキサール燐酸は低体 温下の脳アミノ酸代謝の変動を抑制するといえる.

10) ATP 投与群では低体温下での脳遊離アミノ酸の変動がさらに少なかつた。即ちピリドキサール 燐酸投与群における遊離グルタミン酸の 10°C までの減少もみとめられなかつた。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜わり、 御校閲を辱うした恩師砂田輝武教授ならびに稲田潔 助教授に対し衷心より感謝の意を捧げるとともに, 日夜御教示御鞭撻を賜つた心臓研究班諸兄に深謝す る.

(本論文の要旨は第65回日本外科学会総会,第40回中国四国外科整形外科学会において発表した)

献

素, 7:33, 昭37.

- 10) 塚田裕三他: ペーパークロマトグラフィーによる脳組織内遊離アミノ酸の分離定量法について、 生化学, 33:51, 昭36.
- 11) 増山元三郎:少数例のまとめ方と実験計画の立 て方. p.25 河出書房 昭18.
- Roberts, R.B. et al.: Biochemical and physiological Differentiation during Morphogenesis.
 J. Neurochem., 4: 78, 1959.
- 13) Baxter, C. F. et al. : Inhibition in the Nervous System and γ-aminobutyric Acid. p. 214, Pergamon Press, 1960.
- 14) Friedberg, F. et al.: Partition of Intravenously Administered Amino Acids in Blood and Tissue. J. Biol. Chem., 168: 411, 1947.
- 15) 塚田裕三他: N¹⁴-アンモニア および C¹⁴-ブ ドウ糖による脳内アミノ酸代謝の研究。生化学, 33:684, 昭36.
- 16) Knauff, H.G. et al. 成瀬浩他: 脳組織のアミノ酸. 蛋白質核酸酵素, 7:33, 昭37より引用.
- 17) Bering, E. A. et al.: Studies on Hypothermia in Monkeys. Surg. Gynec. and Obste., 102: 134, 1956.
- 18) Callaghan, J. C. et al. : Cerebral Effects of Experimental Hypothermia. Arch. Surg., 68:

- 208, 1954.
- 19) Trede, M. et al.: Pathophysiologic Aspect of Profound Hypothermia with Extracorporeal Circulation. Ann. Surg., 151: 210, 1961.
- 20) Sealy, W. C.: Prevention of Ventricular Fibrillation during Profound Hypothermia by Quinidine. Ann. Surg., 151: 490, 1960.
- 21) 石合省三:血液冷却法による超低体温下循環遮 断時の脳波及び脳変化。岡医会誌, 74: 183, 昭37.
- 22) DeRopp, R. S. : Effect of Drugs on Amino Acids Level in the Rat Brain, Hypothermic Agents. J. Neurochem. 7: 128, 1961.
- Hans Weil-Malherbe: Studies on Brain Metabolism. Biochem. J., 30: 665, 1956.
- 24) Parmer, S. et al.: Biochemistry of the Central Nervous System (ed. F. Brücke). P. 40, Pergamon Press, 1959.
- 25) Lowe, I. P.: The Flurorimeteric Measurement of Glutamic Decarboxylase and its Distribution in Brain. J. Neurochem., 3: 8, 1958.
- 26) Ansell, G. B. et al.: Evidence for a Neutral Proteinase in Brain Tissue. Biochemica et Biophysica Acta, 13:92, 1954.
- 27) Rush, B. F. et al.: Effects of Total Circulatory Standstill in Profound Hypothermia. Surgery, 50: 40, 1961.
- 28) Bernhard, W. F. et al.: Profound Hypothermia as an Adjunct to Cardiovascular Surgery. J. Thoracic and Cardiovasc. Surg., 42: 263, 1961.
- 29) Lourie, H. et al.: Effects of Hypothermia upon Vital Staining of the Brain. J. Nerv. Ment. Dis., 130: 1, 1960.
- 30) 清水茂松他: 7-アミノ酪酸の作用と臨床応用に ついて. 治療, 41: 959, 昭34.
- Takahashi, H. et al.: On the Site of Action of γ-aminobutyric Acid on Blood Pressure. Jap. J. Physiol., 8: 378, 1958.
- 32) 伊藤秀三郎他: glutamin 酸 Na 及び Asparagin 酸 Na の皮質並に皮質下運動系に対する作用。日生理会誌, 14:392, 昭27.
- 33) MacMunn, C. A.: 松原弘昌他: Cytomach の臨床使用経験. チトマツク文献集, 1:16より引用。

- 34) Keilin, D: 松原弘昌他: Cytomach の臨床使用経験. チトマツク文献集, 1:16より引用.
- 35) Margoliash, E. : Amino-acid Sequence of Horse Heart Cytochrome C. Nature, 192 : 1121, 1961.
- 36) Beinhert, H.: Studies on the Incorporation of Injected Cytochrome C into Tissue Cells. J. Biolog. Chem., 186: 167, 1950.
- 37) Feinen, F. J.: Die Wirkung von Cytochrom C bei der Narkose und Verschiedenen Sauerstoffmangelzustanden. Dtsch. Med. Woche, 80 : 146, 1955.
- 38) Laborit, H. et al.: Le Cytochrome C, Freinateur Metabolique. Presse Med., 66: 597, 1958.
- 39) Zapp, E.: Die Behandlung kindlicher Sauerstoffmangelzustände mit Cytochrom C. Arch. für Kinderheilkunde, 156: 248, 1958.
- 40) Beraud, P. T.: Variation du taux du Cytochrome C dans les etats d'inanition chez le lapin. Schweiz. Med. Woche., 85: 174, 1955.
- 41) Boden, E. et al.: 難波和: 心疾患に対するチトクローム C の臨床的使用経験. チトマツク文献集, 1:30, 1965.
- 42) 相沢豊三他: Cytochrome C の脳血管障害に対する影響. 内科, 8:957, 1961.
- Proger, S. et al.: 戸山祥三: チトマツクの 使用経験、チトマツク文献集, 1:40, 1964.
- 44) Costa, G.: 戸山祥三: チトマツクの使用経験. チトマツク文献集, †: 40, 1964.
- 46) 土肥淳一郎他:各種皮膚疾患に対するビリドキ サール燐酸の臨床効果。臨床皮泌尿器科,18: 79, 昭39.
- 47) Roberts, E.: γ-aminobutyric Acid in Brain: its Formation from Glutamic Acid. J. Biol. Chem., 187: 55, 1950.
- 48) Roberts, E.: Inhibition in the Nervous System and γ-aminobutyric Acid (ed. Roberts, E.)
 P. 144, Pergamon Press, 1960.
- Harold, A. H.: Review of Physiological Chemistry.
 7 th Ed. P. 119, Lange Medical Publications, 1959.

- 50) 相沢豊三他: 脳血管障害 Uridine の使用経験. ATP の基礎と臨床, 1:175, 1961.
- 51) 新城之介他: ATP の臨床使用経験. ATP の基 礎と臨床, 1:178, 1961.
- 52) 植木幸明他: ATP 頸動脈内注射の脳波に及ぼす影響. ATP の基礎と臨床, 1:173, 1961.
- 53) 日下 連他:脳血管障害に対する ATP の臨床 的効果について、ATP の基礎と臨床, 1:169, 1961.
- 54) Nancy, E. et al.: Neurologie Changes Following Profound Hypothermia. Ann. Surg., 157: 366 1963.

Studies on Profound Hypothermia

Alterations of γ -aminobutyric Acid, Glutamic Acid and Aspartic Acid in the Cerebral Cortex

By

Shuji SEKI

The 2nd Department of Surgery, Okayama University Medical School (Director: Prof. Terutake Sunada)

Effects of profound hypothermia on free amino acids in the cerebral cortex, especially on 7-aminobutyric acid, glutamic acid and aspartic acid, which have been believed to have intimate relationship to the cerebral function and metabolism, were studied in this report. Furthermore, effects of cytochrom C, pyridoxal phosphate and adenosine triphosphate on them in profound hypothermia were also investigated.

Until 25°C, 7-aminobutyric acid and glutamic acid were decreased, whereas aspartic acid was almost constant. At 20°C 7-aminobutyric acid and aspartic acid were increased, on the other hand glutamic acid was constant.

In the control group, in which respiration was not artificially maintained, 7-aminobutyric acid and glutamic acid were increased below 15°C and 10°C, respectively, while aspartic acid was almost constant.

In the group, in which respiration was artificially continued after respiratory arrest (respired group), patterns of alterations in the free amino acids were different between normothermia to 25°C, 25°C to 20°C, 20°C to 15°C and 15°C to 10°C. Among them, the alteration between 25 to 20°C and 20 to 15°C seemed to be most prominent.

Below 20°C, amounts of the 3 amino acids in the respired group were less than those in the control group.

Amounts of the 3 amino acids in the respired group during cooling were more than those in the rewarmed group, except that of 7-aminobutyric acid in the rewarmed group at 25—30°C, which means that recovery of amino acid content from hypothermia was started after that of 7-aminobutyric acid.

In the rewarmed group there was no difference in amino acid content between the group in which cardiac action and respiration were not resuscitated and the group in which only cardiac action was resuscitated, while there were prominent differences between the group in which only cardiac action was resuscitated and the group in which both cardiac action and respiration were resuscitated. Namely amounts of glutamic acid and aspartic acid in the former were more than those in the latter, but the difference of aspartic acid in both groups was statistically significant, but actually indefinite.

In the rewarmed group resuscitation of respiration prevented further increase of glutamic acid and accelerated decrease of aspartic acid. There was no relationship to resuscitation of

the heart.

Cytochrom C delayed hypothermic change of 7-aminobutyric acid about 5°C and made hypothermic alterations of the other 2 amino acids less prominent.

Pyridoxal phosphate and adenosine triphosphate alleviated hypothermic alterations in the 3 amino acids.

On the results mentioned above, it was concluded that amounts of free 7-aminobutyric acid, glutamic acid and aspartic acid changed intimately with alterations of brain temperature, i. e. body temperature.

Cytochrom C, pyridoxal phosphate and adenosine triphosphate alleviated hypothermic changes in the 3 amino acids.