

脳 の シ ス タ チ オ ニ ン

第 I 編

大脳組織呼吸 (in vitro) に及ぼすL-シスタチオニンの影響

岡山大学医学部神経精神医学教室 (主任: 奥村二吉教授)

松 田 清

〔昭和 36 年 2 月 24 日受稿〕

緒 言

脳組織内遊離アミノ酸の構成は, Roberts¹⁾, Awarapa²⁾, Schurr³⁾, Tallan⁴⁾, 及び奥村⁵⁾ らによつて大体近似したパターンが得られて来たが, 近年の脳の生化学的研究は, 脳の代謝の特異性を中枢神経機能, 就中高等動物の精神機能と結びつけようとする試みを次々に成功せしめ, 特に Krebs⁶⁾ らにより指摘された如く脳内遊離アミノ酸の大半を占めるグルタミン酸及びその代謝系に属する γ -アミノ酪酸, β -ヒドロキシ γ -アミノ酪酸 (以下GABOB と略称) 等が, 脳内における活発な代謝と相応じて, 或いは抗痙攣作用を有し^{7,8,9)}, 或いは精神薄弱^{10,11)} を治癒せしめ, 又低血糖昏睡を覚醒せしめる^{11,12)} 等々の中枢機能に果す大きな役割について実験した報告は枚挙に暇がない程である。しかして 1957 年 Tallan, Moore & Stein¹³⁾ が人脳に見出したシスタチオンもこの意味において, その生理的機能が脳との関連において再研究されてよいのではあるまいか。殊にこのシスタチオンは他のアミノ酸と異なり, 人脳もしくは猿脳の如く高度の精神機能を有する組織のみに特異的に存在するということは, これが唯, メチオンからシステインへの中間代謝物であるという以上の意義を, 中枢神経に与えている事の暗示とはならないであろうか。前報において筆者は脳中シスタチオンは脳外から侵入したものでない事を報告し, 又, 肝に比してその代謝能が大いに異なる事を森定¹⁴⁾ は認めているが, この事はこの含硫アミノ酸の脳との特異な結びつきを益々強調する事になると考える。前述のグルタミン酸の代謝上先ず取り上ぐべきは脳組織呼吸の賦活であらう。即ち, 多くのアミノ酸はこれを分離脳組織に与えても, その呼吸を何ら賦活せず, 且維持もしないのに, グルタミン酸はブドー糖にまさる呼吸率を与える¹⁵⁾。

GABA についても同様である事は塚田¹⁶⁾ らの報告がある。この特異性をグルタミン酸及びその代謝系物質の中枢作用と結びつけて, Price, Waelsch & Putnam 以来多くの試みがなされた事は前述したが, 最近でも陣内¹⁹⁾ が GABOB の与える脳呼吸賦活率はてんかん脳では高いといっているのは, 両者の関連を端的に表わそうとした一つの試みとして注目される。

一方, 脳にも比較的大量に存在する (0.5 mg/g, Boyland, 1933) グルタチオン¹⁸⁾, グルタミン酸と同時に, 或いはそれぞれ以上の重要性を以つて, シスタチオンの代謝物たるシステイン及びシスチンと密接不離な関連において生体の代謝に重大な貢献をなしているという事実は¹⁹⁾, 脳内含硫アミノ酸の代謝特異性, 特に大量存在するシスタチオンの意義に一層の興味を唆るものであらう。

以上筆者はシスタチオンの脳生理作用に対して有する役割を追求するに先立つて, グルタミン酸の例にならいこれが脳組織呼吸に何如なる影響を及ぼすかをしらべた所以である。勿論, これのみを以つて, 代謝系万般に推論する事は許されず, 又人脳と実験動物のちがいが当然考慮されねばならないが, 飽くまで一つの試みとして行なつた事を附言する。

実 験

I. 実験材料及び実験手技

L-シスタチオンは前報同様, 吉富製薬より提供されたものである。組織標本は雄系雄成熟ラッテを断頭放血後剔出した大脳皮質及び肝について, それぞれ 100 mg 前後の切片を作つた。これをワールブルグ検圧計容器に入れるのであるが, 切片作製, 基質としてのシスタチオン溶液, ブドー糖, 対照溶液等々の調製に関しては前報における, L-シスタチ

オニンの脳内能動的取り入れの実験手技と同様であるので反復を避ける。唯、ここで注意すべきは、脳ではそれ程でもないが肝は、動物の個体差その栄養状態により無基質時の酸素消費量に比較的大きい変動の現われる懸念がある事である。勿論実験に先立ち動物は可及的均一と思われるものを選び、実験前同一条件で飼育したものをを用いたが、更に誤差を少くするため、剔出した脳、肝共に数四分の切片を適当に混じて必要重量づつ配分した。又、シスタチオニンの溶解に際して塩酸と苛性ソーダを使用する事も前報通りであるが、これらが組織呼吸に及ぼす無機塩としての作用は軽視出来ない。そのため、必ず対照にも同量の塩酸と苛性ソーダを加えた塩溶液を与えるようにした。切片とは別に脳は、ホモジネートについても酸素消費量をしらべたが、この際は、切片作製の際と同様にして剔出した大脳皮質(約1g)にK. R. P. を10倍量加えて氷冷操作で2,500 K. P. m. 3分間磨砕した。切片及びホモジネートを用いた際のワールブルグ検圧計容器内の構成は次の如くなる。

主室： 組織切片 100 mg 前後を K. R. P. (pH 7.2) 0.8 cc に浮遊せしめる。或いはこれに最終濃度 100 mg% のブドウ糖を加える。ホモジネートでは、前記10倍濃度のもの2ccを入れる。

側室： pH 7.2 に調整した 5 mM の L-シスタチオニン溶液 0.2 cc。ホモジネートの際は 0.4 cc、又はこれと同液量の対照用無機塩溶液

副室： 4 N NaOH 0.2 cc を口紙片と共に入れる。

以上の如く調整したものに、氷冷下で酸素を飽和せしめ、予備振盪時間を15分とし、その間15分毎に検圧計の読みを記録した。なお、側室内のシスタチオニン溶液及び対照液は、予備振盪後直ちに主室に注いだ場合と、60分間インクベート後主室に注ぎ、その前後における酸素消費量の単位時間内変化を比較する方法の二通りについて実験を行なった。ワールブルグ検圧計振盪の周期は1分間約90回とした。

II. 実験成績

先づ上記条件における60分間インクベート後の脳切片及びホモジネート、肝切片の組織1g当りの酸素消費量を表1に示す。

表に見る如く、脳組織では切片でも、又ホモジネートでも、これにシスタチオニンを附加する事によ

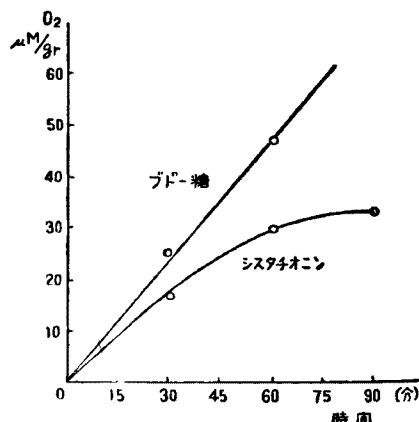
表 1. ラッテ脳及び肝の酸素消費量

組織材料	条 件	酸素消費量 ($\mu\text{M}/\text{gr per hr}$)
脳 切 片	無 基 質	30.55 $\pm$ 2.94
	シスタチオニン	31.05 $\pm$ 0.87
	ブドウ糖	46.15 $\pm$ 3.76
	ブドウ糖+ シスタチオニン	49.33 $\pm$ 10.50
脳ホモジ ネート	無 基 質	36.22 $\pm$ 2.86
	シスタチオニン	36.44 $\pm$ 3.31
肝 切 片	無 基 質	33.30 $\pm$ 4.96
	シスタチオニン	41.87 $\pm$ 5.40

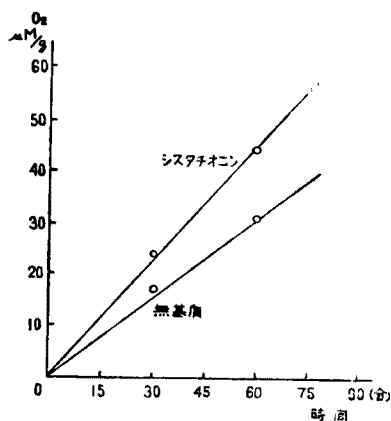
りその呼吸率は殆んど変化を受けていないようである。これをブドウ糖のそれと比較して見ればその差は著明である。又、ブドウ糖附加の際の呼吸率に対してもシスタチオニンはこれを増強せしめていない。これに対し、肝切片における酸素消費量はシスタチオニン附加により著明な増強を見せている。(危険率5%)。

次に脳及び肝切片の酸素消費量を継時的に測定し、これを図I、IIに示す。これで見ると脳切片では、シスタチオニンを加えて無基質の時と同様に呼吸率は時間と共に急速に低下し、60分を過ぎれば最初の1/3に下る。これを始めからグルコースを附加したものに比較すればその差は著明である。グルコース、グルタミン酸の附加による脳組織呼吸維持については McIlwain の総説¹⁵⁾ に詳しいが、それと比較してこの図I及びIIIを見ても、シスタチオニンが脳組織の呼吸を支え得ない事は明らかである。これに反して肝では無基質の際も、それ程急速な呼吸率低

図 I 脳切片呼吸率

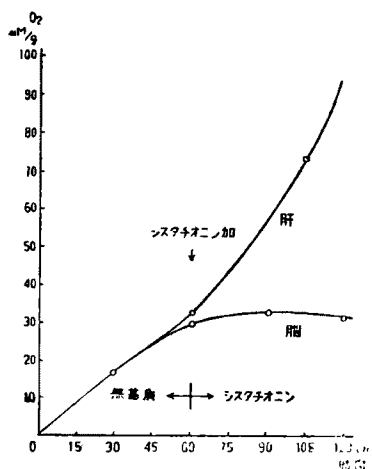


図Ⅱ 肝切片呼吸率



下を見ないが、これに最初からシスタチオンを附加しておけば、最初から一貫して高い値を示し(図Ⅱ)更に60分無基質でインクベート後、シスタチオンを附加すれば(図Ⅲ)徐々にその呼吸率が上昇して来る。前報において述べた如く、脳組織を上述

図Ⅲ 脳及び肝切片のシスタチオン附加前後の呼吸



の如き条件でインクベートする際当然60分以上を経過すれば、細胞の膨化、破壊が起つて来る事を考慮しなければならないが、それにしても脳と肝では、明らかな差を認めざるを得ない。

考 案

Ⅰ-シスタチオンを最初に合成し、これを肝切片及び抽出液に作用させてシステインを検出したのは du Vigneaud²⁰⁾ らであるが、彼はこの反応は嫌気

的条件の方が速やかに起る事を認めている。しかし好氣的にも可成り速やかにシスタチオンが消失してしまう事は前報で述べた通りである。唯好氣的条件では生じたホモセリンが α -Keto 酸を生ぜず、 α -ケト- γ -ハイドロキシ酪酸となる点、又システインデスルフラゼの作用が弱い等の差はあるようである。いづれにせよシスタチオンは分解されてシステインとなり、これが酸化されてシスチン、無機硫酸塩及びシステイン酸になる。この代謝過程はすべて生体実験において確かめられ、又剔出肝標本でも行なわれる事も認められており、筆者の実験においても肝切片にシスタチオンを加えると酸素消費量が上昇するという成績を得たのも、この裏書きにすぎない。しかるに、同様の代謝系路が推定される脳で殆んど酸素消費量が変化しないのは何故か。第一は繰り返し述べた如く、シスタチオナーゼ活性が弱く、システインへの移行が少ない事。即ち、シスタチオン自体は脳においてもそれ自体呼吸材料となり得ぬ点は他の多くのアミノ酸と同様であるが、同時に直接被酸化物となり得るシステインの供給も、肝に比し極めて弱い事によるものであろう。第二には、システインの酸化過程もまた、これを触媒する酵素能力が脳では極めて弱いという事による。即ち、元来システイン及びシスチンの酸化過程は、そのSがヨード、過塩素酸、等の酸化剤で酸化され得るといふ化学的実験に根拠を置き、上記の硫酸塩、システイン酸等の最終生成物を確認しながらも、一方ではその中間代謝物として想定されるシスチンジスルフォキシド、システインスルフェン酸或いはシステインスルフィン酸等は肝腎等を材料として行なつた生体実験では、この代謝が速やかなため、これを発見し得なかつたのに、1954年 Bernadette et Fernande²¹⁾ はラッテ脳中にシステインスルフィニック酸を見出し、これは脳にその補酵素たる Pyridoxal Phosphate が不十分であるため肝腎に比しデスルフィネーションが僅かしか行なわれていない事のためであると報告している。要するに脳ではシスタチオン以下の代謝は一貫して極めてその能力が弱く、従つて酸素消費量も少ない。換言すればエネルギー源として重要な意義はないといえるようである。又以上の考察とは別にシスタチオンが脳のエネルギー代謝に一種の賦活因子として働き得るのではないかという仮定も、これをブドー糖と共に与えた時、ブドー糖の呼吸率増加に何ら加担しないという成績から否定せざるを得ない。前述した如く、システイ

ン、シスチンがグルタチオンと関連してその活性チオール基を以つて生体の代謝に影響しているとしても、脳にシスタチオニンを与える事でこれを増強する事は出来ない事は明らかである。

以上の成績及び考察から、目的論的に推察して、脳に存在する含硫アミノ酸は、肝と異なり、その機能に直接活発に関与しないが故に、その代謝が極めて弱い。即ち、代謝機能はあるにしても、生体全体の含硫アミノ酸代謝に関連して消極的、受動的に変動されている程度ではないか、それ故、森定のいう如く、癌等で生体の含硫アミノ酸の代謝が変動を受けた際、その中間代謝物が増量する様な現象も起るのではないかとこの考えも生ずる。しかし、又一方では、脳のエネルギー源としては要求されず、他に特殊な機能活動があるが故に、合成されたシスタチオニンが早急には分解され難いのではないかという仮説も未だ否定し切れない。特にシスタチオニンが高様な精神機能を有する人脳にのみ特異的に多いという点は益々この考えを強めるものであろう。今後、更に蛋白代謝その他脳の代謝にシスタチオニンが如

何なる役割を演ずるかを追求すると同時に、なお、グルタミン酸、GABA 及び GABOB 等で試みられているような純薬物学的生理実験も行なつてこれらの仮説に解明を加えて行きたいものである。

要 約

in vitro におけるラットの脳及び肝組織呼吸に及ぼす L-シスタチオニンの影響を見た。脳切片及びホモジネートではシスタチオニンはその酸素消費量を殆んど変化せしめず、又、ブドー糖の呼吸率にも見るべき影響を与えない。これに反して肝切片では著明な呼吸率の上昇を認めた。

最後に御懇篤な御指導御校閲を賜つた奥村教授に深甚の謝意を捧げ、又終始御指導御助言を戴いた大月講師に御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Roberts, E. and Frankel, S. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74, 383 (1950).
- 2) Awapara, J., Landna, A. J. et al. : J. Biol. Chem. 187, 35 (1950).
- 3) Schurr, P. F., Thompson, H. T. and Henderson, L. M. : Ibid. 182, 29 (1950).
- 4) Tallan, H. H., Moore, S. and Stein, W. H. : Ibid. 211, 927 (1954).
- 5) 奥村・大月：第 57 回精神神経学会総会宿題報告。神経誌 62, 1801 (1960).
- 6) Krebs, H. A. : Bioch. J. 44, 159 (1949).
- 7) Price, J. C., Waelsch, H. and Putnam, T. J. : J. Amer. Med. Ass. 122, 1153 (1943).
- 8) Hawkins, J. E. Jr. and Barrett, L. H. : Clin. Chem. Acta, 2, 481 (1957).
- 9) Hayashi, T. : Nature, 182, 1443 (1958).
- 10) Albert, K., Hoch, P. and Waelsch, H. : J. nerv. ment. Dis., 104, 263 (1941); 114, 471 (1951).
- 11) 清水：臨床内科小児科 14 巻, 5 号 (昭和34年).
- 12) Mayer-Gross, W. and Walker, J. W. : Bioch. J. 44, 92 (1949).
- 13) Tallan, H. H., Moore, S. and Stein, W. H. : J. Biol. Chem., 230, 707 (1958).
- 14) 森定：未発表.
- 15) McIlwain, H. : Biochemistry and the Central Nervous System, London (1955).
- 16) 塚田他：神経進歩 4 巻, 3 号 (1960).
- 17) 陣内他：同上.
- 18) Boyland, E. : Biochem. J. 27, 802 (1933).
- 19) 小田他：診療 11 巻, 11 号 (昭和33年).
- 20) Bach (亀山他訳)：高等動物のアミノ酸代謝。文光堂 (昭和30年).
- 21) Bergeret, B. et Chatagner, F. : Biochim. et Biophys. Acta, 13, 533 (1954).

Cystathionine in the Brain Tissue

Part 2. Influences of L-Cystathionine (In vitro) on the Cerebral Tissue Respiration

By

Kiyoshi MATSUDA

Department of Neuro-Psychiatry Okayama University Medical School
(Director: Prof. Nikichi Okumura)

The tissue respiration was investigated using slices and homogenates of brain cortex and liver of albino rats in K. R. P. solution with L-cystathionine as substrate.

No significant increase of oxygen consumption of brain cortex followed the adding of L-cystathionine to K. R. P. solution, while considerable augmentation of that was found in liver tissue under same condition. And, L-cystathionine could activate the oxygen uptake of brain cortex neither when it was added to medium containing glucose as substrate previously.

The results of these experiments suggest, therefore, that the cystathionine found in the human brain is not able to work as one of energy supports of brain like as glutamic acid.
