

脳髄灌流法による脳の焦性ブドウ酸代謝に関する研究

第 3 編

潜在性脳局所アナフィラキシー家兎脳の 焦性ブドウ酸代謝について

岡山大学医学部第 1 (陣内) 外科教室 (指導: 陣内教授)

副 手 菅 正 明

〔昭和 34 年 2 月 14 日受稿〕

第 1 章 緒言ならびに文献

私は第 1 編において pyruvate 代謝の研究を脳髄灌流法を用いて行ない、pyruvate を附加して灌流すると pyruvate は減少し citrate は増加することを明らかにし、つづいて第 2 編において pyruvate 酸化におよぼす種々の cofactor の影響について検索を行ったが、本編においては潜在性脳局所アナフィラキシー家兎 (以下脳局「ア」家兎と略す) の pyruvate 代謝について検討することにした。

さて、てんかんの病因に関して、今日までに知られている学説は、血管痙攣説¹⁾²⁾³⁾ 酸塩基平衡障害説⁴⁾⁵⁾、内分泌障害説⁶⁾、水分代謝異常説⁷⁾、血液 O₂、CO₂、平衡障害説⁸⁾⁹⁾、血糖異常¹⁰⁾、acetylcholine 代謝障害¹¹⁾、glutamic acid 代謝異常¹²⁾¹³⁾、K、Mg、Ca、NH₄、等塩分代謝障害¹⁴⁾¹⁵⁾ などがある。

また近年 allergy によつててんかんが惹起せられるという説があり、これに対する多くの裏付けが報告されている^{16)~34)}。

陣内教授は³⁵⁾³⁶⁾ 痙攣素質乃至痙攣準備状態を重視し、真正てんかんにおいては、少なくともその初期においては全く器質的变化をみとめないこと、および血行障害が重要な役割を演ずることなどから allergy に真正てんかんの原因を求め、実験的に稀薄な抗原を用いて脳に何ら器質的变化をも認めない程度に弱い脳局所アナフィラキシーを反復しておこらせることによつて、神経細胞の過敏状態すなわち痙攣準備状態が与えられると提唱した。そして卵白、牛血清、 α 型連鎖球菌などを持ちいて、潜在性脳局「ア」動物を生成し、これらの動物脳は痙攣準備状態を賦与せられていることを明かにする³⁷⁾³⁸⁾³⁹⁾⁴⁰⁾

とともに、これらの動物の病理、あるいは生化学的研究がすすめられてきた。

生化学的な研究として、教室の清水³⁸⁾、兼松⁴¹⁾、宇都宮⁴²⁾、於保⁴³⁾ らは in vivo および in vitro の実験で、解糖作用の低下していることを明かにしており、沖⁴⁴⁾ は cholinesterase 活性値の変動を、井上⁴⁵⁾ はアミノ窒素の変動を報告しているほか、最近 hexokinase⁴⁶⁾、aldolase⁴⁷⁾、glucose 代謝の shunt path の活性⁴⁸⁾、T. C. A cycle の酸化能⁴⁹⁾ 32P 代謝⁵⁰⁾⁵¹⁾ など種々の点に関する比較検討が相ついで行われている。

私もこの一連の研究の一環として脳局「ア」家兎の pyruvate の代謝を検索し、いささか知見をうることができたので、ここに報告する。

第 2 章 実験方法

第 1 節 実験動物

長期間繰返し脳にアナフィラキシー反応をおこさしめても脳実質に器質的变化のあらわれにくい点、および長期間の飼育に便利な点から実験動物として体重 2.5 kg 以上の健康な白色成熟家兎をもちいた。

第 2 節 抗原の作成法および感作の方法

1) 牛血清の作成法

笠井³⁹⁾の方法にならい、新鮮な牛血清液を数時間室温に放置後、遠沈により血清を分離、54°C、30分間湯浴にて非働化し、0.5%の割合に石炭酸を加えて氷室に保存する。

2) 牛脳灰白質磷脂質の作成法

笠井³⁹⁾の方法にならい、新鮮な牛脳の脳軟膜をはがし、可及的皮質のみをかきとり、乳鉢でかゆ状となし 5~6 倍の純エチルアルコールを加えて時々振盪攪拌しながら 1 週間室温に放置する。これを

濾過した後、濾液を枝付きコルベンにとり、重蒸餾中に 40°C に保ちつつ流水ポンプによりアルコールを減圧蒸溜すると黄褐色の粘稠な残渣が残るから、これを少量のエチルエーテルで抽出し、抽出液に多量のアセトンを加えて沈澱を生ぜしめる。この沈澱をとり、アセトンを十分蒸発させ、再びエーテルに溶解し、再びアセトンで沈澱せしめ、白色の沈澱を集めアセトン蒸発せしめる。これを保存する場合には褐色瓶に入れて再びアセトンを加えて、冷暗所に保存する。これをもちいるに臨んでは真空硫酸乾燥器で乾燥し、上述の非働化牛血清 2 ml に 10 mg の割合に混じ、牛脳灰白質磷脂質のエムルジオンを作った。

3) 感作の方法および効果注射

家兔の耳静脈内に pro Kg 2 ml の割合に上記 emulsion を 2 日間連続注射し、12 日後にそれぞれ Arthus 反応をおこない、反応陽性のものに pro Kg 1 ml 宛 2 週間間隔で 5 回注射をおこなった。

第 3 節 実施方法

脳髄灌流法としては第 1 編と同様井上氏の灌流方法にしたがった。

使用試薬その他の実施方法はまったく第 1 編にのべたものと同様である。

第 3 章 実験成績

正常群、脳局「ア」群ともに 90 ml の灌流液に 6 mg pyruvate を附加して灌流を行つたが、その成績は第 1 表のごとく、正常群では灌流前の pyru-

第 1 表 pyruvate 6 mg のみ附加した場合の灌流前後の pyruvate および citrate の灌流液中濃度 mg %

No.	pyruvate mg %			citrate mg %		
	before irrig.	after irrig.	decrease	before irrig.	after irrig.	increase
1	5.04	4.62	0.42	0.70	1.18	0.48
2	3.61	3.04	0.57	0.50	1.00	0.50
3	3.32	2.92	0.40	0.75	1.21	0.46
4	4.11	3.67	0.44	0.77	1.26	0.49
5	4.25	3.68	0.57	0.64	0.91	0.27
6	3.41	2.93	0.48	0.62	0.97	0.35
7	3.52	3.09	0.43	0.42	0.83	0.41
8	3.40	2.93	0.47	0.57	0.86	0.29
av.	3.83	3.36	0.47	0.62	1.03	0.41

vate の濃度は 3.32~5.04 mg%, 平均 3.83 mg% であり、灌流後には 2.92~4.62 mg%, 平均 3.36 mg% となり減少は 0.42~0.57 mg%, 平均 0.47 mg% である。citrate の濃度は灌流前には 0.42~0.77 mg%, 平均 0.62 mg% であり、灌流後には 0.83~1.26 mg%, 平均 1.03 mg% となり 0.27~0.50 mg%, 平均 0.41 mg% の増加となつているのに対し、脳局「ア」家兔においては第 2 表のごとく、pyruvate の灌流前の濃度は 3.54~4.52 mg%, 平均 3.93 mg%, 灌流後の濃度は 2.23~4.05 mg%, 平均 3.50 mg% であり、0.33~0.51 mg%, 平均 0.43 mg% の減少となつている。一方 citrate の濃度は、灌流前 0.81~1.32 mg%, 平均 1.05 mg%, 灌流後は 2.03~2.68 mg%, 平均 2.30 mg% であり、1.06~1.41 mg%, 平均 1.25 mg% の増加を示している。

第 2 表 脳局「ア」家兔について pyruvate 6 mg 添加の場合の灌流前後の pyruvate および citrate の灌流液中の濃度 (mg %)

No.	pyruvate mg %			citrate mg %		
	before irrig.	after irrig.	decrease	before irrig.	after irrig.	increase
1	3.54	3.15	0.39	0.99	2.39	1.40
2	4.52	4.05	0.47	0.81	2.03	1.22
3	3.62	3.29	0.33	1.32	2.48	1.16
4	3.98	3.63	0.35	1.15	2.46	1.31
5	3.74	3.31	0.43	0.91	2.13	1.22
6	4.26	3.78	0.48	0.98	2.04	1.06
7	4.09	3.58	0.51	1.27	2.68	1.41
8	3.71	2.23	0.48	0.88	2.17	1.29
av.	3.93	3.50	0.43	1.05	2.30	1.25

第 4 章 総括ならびに考按

pyruvate を附加して脳髄灌流を行い、灌流前後の pyruvate および citrate の量を正常家兔および脳局「ア」家兔について比較した結果、第 3 章において示したとき結果をえた。

まず pyruvate の減少をみると、正常家兔では 0.40~0.57 mg%, 平均 0.47 mg%, 脳局「ア」家兔では 0.33~0.51 mg%, 平均 0.43 mg% で、脳局「ア」家兔群ではやや pyruvate の酸化が抑制され

ているようである。一方, citrate は正常家兎では灌流前 0.42~0.77 mg%, 平均 0.62 mg% であるが, 灌流後は 0.83~1.26 mg%, 平均 1.03 mg% で 0.27~0.50 mg%, 平均 0.41 mg% の増加をなしている。他方脳局「ア」家兎では, 灌流前は 0.81~1.32 mg%, 平均 1.05 mg% であるが灌流後は 2.03~2.68 mg%, 平均 2.30 mg% となり, 1.08~1.42 mg%, 平均 1.25 mg% の増加をなしており, これら両者を比較すると pyruvate の濃度についてはほとんど大差はないが灌流前後の citrate の濃度が脳局「ア」家兎群では正常群に比して高いこと, および citrate の増加のきわめて多いことが特徴的である。

最近教室の樋口⁴⁹⁾は脳 mitochondria をもちいた実験で, TCA cycle の諸 members の酸化を正常家兎と脳局「ア」家兎とについて比較し, pyruvate の酸化も citrate の酸化も脳局「ア」家兎では抑制されていることを見出しているのを、そ

れと併せ考えると, 私の実験成績は citrate の生成がさかんであると考えるよりはむしろ citrate の酸化が抑制されているために蓄積されて灌流液中に増加しているのであろうと解釈されるのである。

第5章 結 論

1) 井上氏脳髄灌流法をもちい pyruvate を附加して脳髄灌流をおこない, 正常家兎と脳局「ア」家兎の pyruvate 酸化, citrate 生成を比較検討した。

2) その結果, 脳局「ア」家兎では正常家兎にくらべて pyruvate 酸化が抑制されていることおよび citrate の増加が大であることを明らかにした。

稿を終るに当り終始御懇篤なる御指導, 御校閲を賜つた恩師陣内教授に深謝する。

文 献

- 1) O. Förster : Dtsch. Z. Nervenheilk., **94**, 15~53, (1926)
- 2) W. Spielmeyer : Zbl. ges. Neurol. psychiat., **148**, 285, (1933)
- 3) 内村 : 脳と神経, **3**, 9~16, 昭26.
- 4) E. T. Bigwood : Zbl. ges. Neurol. psychiat., **38**, 470, (1924)
- 5) 宮川 : 熊本医学会誌, **14**, 1999~2012 昭13.
- 6) H. Fischer u. J. Thurzo : Zbl. ges. Neurol. psychiat., **43**, 407, (1926)
- 7) Mc. Quarrie : Amer. J. Dis. child., **38**, 451, (1927)
- 8) 宮川 : 精神神経学雑誌, **44**, 325~362, 昭15.
- 9) L. F. Nims, E. L. Gibbs, W. G. Lennex, F. A. Gibbs, of D. Williams : Arch. Neurol. psychiat., **43**, 262~269 (1940)
- 10) F. A. Gibbs. E. L. Gibbs. W. G. Lennex : Arch. Neurol psychiat., **39**, 289~314, (1938)
- 11) A. Pope, A. A. Moris, H. Jasper, K. A. C. Elliot. and W. Penfield. Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis. **26**, 218, (1947)
- 12) 林 : 生理学講座, **10**, II, 4, 昭25.
- 13) H. Weil-Malherbe : Physiol. Rev., **30**, 549, (1950)
- 14) Mc. Quarrie : Amer. J. Dis. Child., **72**, 472, (1946)
- 15) F. A. Gibbs, W. G. Lennex, E. L. Gibbs : Arch. Neurol. Psychiat., **43**, 223~239, (1940)
- 16) 中村 : 臨床医報, **1**, 52~58, 昭22.
- 17) Spratling : cited from practice of Allergy by Vangham, (1948)
- 18) Pagniez of Lieutand : Pr'esse Med., **27**, 693, (1919)
- 19) Kraus and Stricht : 三浦, アレルギー時報, **8**, 13, 昭17より引用
- 20) S. V. Leeuwen : 中村, 臨床医報, **1**, 昭22より引用
- 21) Ward. cited from practice of Allergy by Vangham 1948.
- 22) Howell : cited from Allergy by Urbach & Gottlieb 1946.
- 23) R. L. Mackenzie Wallis, W. D. Nicol & S. M. Craig : Lancet **204**, 741~743, (1923)
- 24) Mc. Cready & Ray : cited from practice of Allergy by Vangham (1948)
- 25) E. Ball : Amer. J. Med. Sci., **173**, 781~788, (1927)
- 26) A. Rowe et. Ch. Richet : J. Med. France., **19**, 170~177 (1930)

- 27) Wilmer & Miller : J. Allergy., 5, 628, (1934)
- 28) J. Forman : Arch. Neurol. Psychiat., 32, 517~522, (1946)
- 29) Balyeat : cited from Allergy by Urbach & Gottlieb (1946)
- 30) Winkelmann & Moore : cited from Allergy by Urbach & Gottlieb (1946)
- 31) B. Dattner : Z. ges. Neurol. psychiat., 11, 632~660 (1931)
- 32) A. Levin : J. Amer. Med. Ass. 97, 1624~1625, (1931)
- 33) F. Kanders : Wien Klin. Wschr. 48, 109~111 (1935)
- 34) F. Kenedy : Arch. Neurol. psychiat., 15, 28~33, (1926)
- 35) 陣内 日本臨床, 9, 1121~1124, 昭26.
- 36) 陣内 : 脳神経領域, 5, 335~345, 昭27.
- 37) 榊原 : 岡山医学会雑誌, 64, 347~366, 昭27.
- 38) 清水 : 岡山医学会雑誌, 65, 1159~1175, 昭27.
- 39) 笠井 : 岡山医学会雑誌, 64, 1587~1605, 昭27.
- 40) 大杉 : 岡山医学会雑誌, 65, 1411~1434, 昭28.
- 41) 兼松 : 岡山医学会雑誌, 65, 1271~1292, 昭28.
- 42) 宇都宮 : 岡山医学会雑誌, 65, 1345~1359, 昭28.
- 43) 於保 : 岡山医学会雑誌, 69, 1745~1771, 昭32.
- 44) 沖 : 岡山医学会雑誌, 64, 1626~1637, 昭27.
- 45) 井上 : 岡山医学会雑誌, 64, 1637~1653, 昭27.
- 46) 山田 : 岡山医学会雑誌 71, 779~798, 昭34.
- 47) 小田 : 岡山医学会雑誌掲載予定
- 48) 小野田 : 岡山医学会雑誌 71, 852~872, 昭34.
- 49) 樋口 : 岡山医学会雑誌 70, 4401~4421, 昭33.
- 50) 由井 : 岡山医学会雑誌 71, 1564~1573, 昭34.
- 51) 東 : 岡山医学会雑誌掲載予定

Experimental studies on pyruvate metabolism in rabbits' brain by irrigation method.

Part 3. On pyruvate metabolism in rabbit's brain with latent cerebral local anaphylaxis.

By

Masaaki SUGA

1st Dept. of Surgery, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Dr. D. Jinnai).

Pyruvate oxydation and citrate formation in the normal rabbit's brain as well as in that with latent cerebral local anaphylaxis were evaluated and compared, and it was proved that the pyruvate oxydation was depressed and the increase of citrate was greater in those with anaphylaxis compared with the normal.
