

脳 の 窒 素 代 謝

第 16 篇

各種処置大黒鼠脳髓 extract のグルタミン合成能

岡山大学医学部神経精神医学教室（主任：奥村二吉教授）

太 田 典 子

〔昭和 34 年 2 月 14 日受稿〕

緒 言

近年、精神病の身体病理を研究する目的から、その治療法である電撃並びにインシュリン衝撃施行時の動物脳髓について、種々の生化学的分野で盛に研究が行われている。このうち、特に窒素代謝に関するものを挙げると、通電によりひきおこされる痙攣に伴い、大黒鼠脳髓アンモニアが増量するという Richter & Dawson⁴⁾ の研究、インシュリン昏睡時、アンモニア並にグルタミン酸が減量すると云う Dawson²⁸⁾ の研究、インシュリン昏睡時、アスパラギン酸が増加するという Cravioto²⁹⁾ の研究等があり、この他、痙攣と脳のアンモニアとの関係を追求したものでは、塚田³⁾、Geiger et al.⁵⁾ Bülow & Hohmes⁶⁾、Krebs et al.⁷⁾、Winterstein⁸⁾ 等と、枚挙にいとまがない。これらの多くは、痙攣並に昏睡が、脳の含窒素物質に著明な変化を来さしめる事を指摘し、その病態生理学的意義を重視している。

著者は、前篇³⁶⁾において、正常大黒鼠をはじめ、各種動物脳髓 extract のグルタミン合成能を測定し、脳髓に於てアンモニア処理を司る酵素系を研究する緒についたのであるが、この、グルタミン合成の酵素系が、脳髓機能の如何なる役割を受持ち、また、精神病に際してどの様に変化するものであるかは、容易にうかがうべくもない事柄である。しかし乍ら、既に教室伊原³⁰⁾が、電撃並びにインシュリン衝撃による Glutamic decarboxylase の変化を見、ついで河田³¹⁾³²⁾、藤田³³⁾が、電気衝撃による痙攣時、脳髓アンモニアは増加、グルタミン酸は減少し、インシュリン昏睡時には、却つてアスパラギン酸が増加する事を述べ、また河田³¹⁾は、長期にわたつて電撃を施行した電撃重積鼠の大脳皮質切片で、アンモニア産生が著明に衰えている事を観察するなど、脳

窒素代謝におけるアンモニア発生機構の観点より行つて来た研究は、電気衝撃が脳髓に刺戟的に、インシュリン衝撃が抑制的に働く事を結論付けているのである。

著者は、これらの事実を、更にグルタミン合成酵素について再検討する事により、複雑なる脳の窒素代謝の消息を、アンモニア処理面よりうかがうることと考え、電撃並にインシュリン衝撃時、および、ヒロボン、リタリン等、覚醒剤慢性投与時、大黒鼠脳髓のグルタミン合成能を検し、若干の興味ある知見を得た。

実 験 方 法

実験動物としては、体重 100~150 g の大黒鼠を用いた。脳髓摘出、extract 作製、incubation、アンモニア並にグルタミンの測定は、第15篇³⁶⁾に記載した如くである。動物の処置は、実験結果の項で、その都度記載する。

実 験 結 果

第1表は、対照群、12例の値である。表の如く、グルタミン合成値は、最高 1.78 $\mu\text{M}/\text{tube}$ 、最低、1.20 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であり、12例の平均は、1.53 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であつた。

第2表は、電撃重積群である。すなわち、体重約 100 g 前後の大黒鼠を選び、45 volt の電流を 3 秒間通じて、痙攣を起さしめる事、朝夕、2 回ずつ、毎日反復し、2~4 週間に及んだものを、最後の処置から 24 時間を経て、実験に供した。この際、鼠は、次第に刺戟的となり、興奮、多動を示す様になるが、尚も日を重ねると、次第に昏迷状となり、動きも少くなる、

グルタミン合成値は、表の如く、最高、

第1表 健常大黒鼠脳髓 extract の glutamine 合成能

例 数	glutamine 合成量 $\mu\text{M}/\text{tube}$
1	1.60
2	1.20
3	1.53
4	1.43
5	1.78
6	1.76
7	1.48
8	1.58
9	1.46
10	1.44
11	1.47
12	1.67
平 均	1.53

第2表 電撃重積大黒鼠脳髓 extract の glutamine 合成能

例 数	glutamine 合成量 $\mu\text{M}/\text{tube}$
1	2.26
2	2.04
3	2.35
4	2.05
5	2.71
6	2.57
7	2.16
8	1.53
9	1.95
10	2.75
平 均	2.21
対 照	1.53

2.75 $\mu\text{M}/\text{tube}$, 最低 1.53 $\mu\text{M}/\text{tube}$ で, 10例の平均は, 2.21 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であり, これを健常群に比べると, 可成りの増加を示すものの様である。

第3表は, インシュリン重積群である。実験動物としては, 体重約 100 g の大黒鼠を用い, これを予め一夜断食せしめておいて, 翌朝, インシュリン 50 EH/kg を注射, 昏睡に入れ, 糖液注射を行つて覚醒させるという処置を毎日くり返し, 10回以上に及んだものである。実験は, 最後の覚醒から24時間を経て行つた。

値は, 第3表に示す如く, 最高, 2.09 $\mu\text{M}/\text{tube}$ 最低, 0.21 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であり, 8例の平均は,

第3表 インシュリン衝撃大黒鼠脳髓 extract の glutamine 合成能

例 数	glutamine 合成量 $\mu\text{M}/\text{tube}$
1	1.13
2	0.40
3	0.37
4	1.40
5	0.21
6	1.06
7	1.68
8	2.09
平 均	1.04
対 照	1.53

1.04 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であつて, 対照の 1.53 $\mu\text{M}/\text{tube}$ に比べると, 可成りの低下を示していた。

第4表は, ヒロポン慢性投与群である。6 mg/kg

第4表 ヒロポン慢性投与大黒鼠脳髓 extract の glutamine 合成能

例 数	glutamine 合成量 $\mu\text{M}/\text{tube}$
1	1.08
2	0.98
3	1.10
4	0.56
5	0.82
平 均	0.91
対 照	1.53

のヒロポンを連日注射, 30日以上に及んだものであつて, この際, 鼠は, 次第に不安多動を示す様になるが, 回を重ねると, 却つて動きは少くなり, 次第に全身状態も衰え始めてくるので, この状態において, 最後の注射から, 24時間を経て実験を行つた。表の如く, 最高は, 1.10 $\mu\text{M}/\text{tube}$ 。最低は, 0.56 $\mu\text{M}/\text{tube}$ 5例平均は, 0.91 $\mu\text{M}/\text{tube}$ と, 対照 1.53 $\mu\text{M}/\text{tube}$ に較べると, 可成りの低下を示している様である。

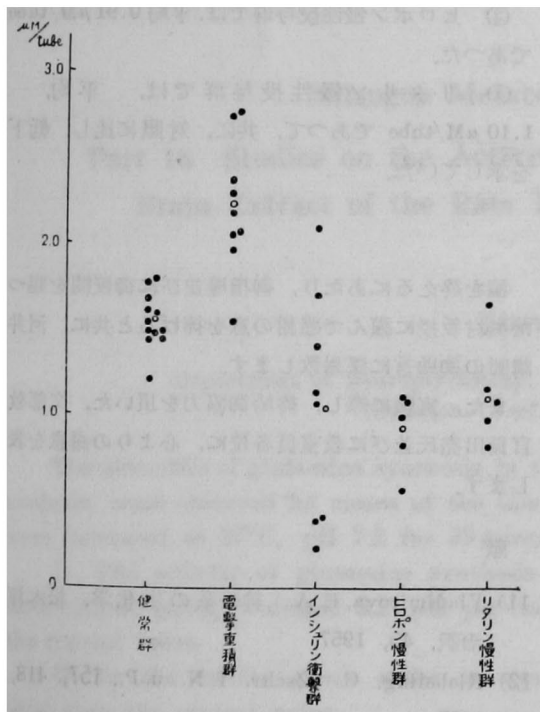
第5表は, リタリン投与群である。連日, 5 mg/kg のリタリンを注射, 30日以上に及び, 最後の注射後, 24時間を経て実験に供した。

表に示すごとく, 最高, 1.64 $\mu\text{M}/\text{tube}$, 最低 0.81 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であり, 5例の平均は, 1.10 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であつて, 対照に比すると, やはり低下を示していた。

第5表 リタリン慢性投与大黒鼠脳髓
extract の glutamine 合成能

例 数	glutamine 合成量 $\mu\text{M}/\text{tube}$
1	1.09
2	1.64
3	0.97
4	0.81
5	1.14
平 均	1.10
対 照	1.53

第1図 各種処置大黒鼠脳髓 extract のグルタミン合成能分布図 (○は平均値を示す)



以上を一括して、第1図に示す。

考 察

最初に、比較考察の為に第6表をかかげる。第6表には、今迄に得られた、アンモニア、グルタミン、グルタミン酸、 γ アミノ酪酸、アスパラギン酸の値と、グルタミン合成値とを併記した。

先づ、電撃重積群であるが、これでは、グルタミン合成が、著明に促進されている。河田の³¹⁾研究によれば、電撃を重積した大黒鼠の脳髓アンモニア量は減少し、その脳皮質切片の、アンモニア発生もまた著明に低下している事実が明かにされているが、この際の、アンモニア減少は、アンモニア発生機構の低下の為か、アンモニア処理機構の増加の為かの何れかであろうが、この研究で得られた、グルタミン合成を促進するという事実は、一見後者を暗示するかの様である。しかし、脳皮質切片の incubation では、その際、グルタミン合成系に必要な葡萄糖も、A.T.P. もない為、当然、グルタミン合成系が余り働かないのだと考えるべきであつて、従つて、アンモニア産生の低下は、やはり、アンモニア発生系の低下を考えねばならぬ様である。そこで、電撃の重積は、主としてアンモニア発生機構を抑制するという事になる。急性に与えて、脳に刺激的に働く電撃を、慢性に重積すると、脳には却つて抑制的に働くという事は、一見奇異に感ぜられるが、この事は、種々の薬剤投与でも見られる傾向であり、ちなみに、伊原³⁴⁾も、ヒロポン、リタリン等の投与でそれを見ているのであつて、一般に、急性にアンモニアを増加させる如き処置を、慢性にくり返すと、却つてアンモニアは減少し、急性に与えて、アンモニアを減少させる如き処置は、慢性では、却つてアンモ

第6表 正常及各種処置大黒鼠脳髓所見(平均値)

mg %	アンモニア	グルタミン	グルタミン酸	γ アミノ酪酸	アスパラギン酸	グルタミン合成 $\mu\text{M}/\text{tube}$
処置別						
対 照	0.62	80.3	158.4	35.2	30.3	1.53
電 気 衝 撃	0.88	/	106.9	28.2	/	/
電 撃 重 積	0.41	100.3	156.1	23.9	39.3	2.21
インシュリン昏睡	0.18	106.3	114.3	35.5	44.7	/
インシュリン重積	0.54	106.1	113.5	34.0	41.6	1.04
ヒロポン注射	1.06	91.6	154.9	28.2	39.1	/
ヒロポン慢性投与	0.38	71.2	134.6	29.0	27.7	0.91
リタリン注射	0.84	111.9	172.2	34.9	45.1	/
リタリン慢性投与	0.47	55.3	160.0	29.3	40.5	1.10

ニアを増加させるという事になるの理が、この場合にも、あてはまるのである。

次は、インシュリン重積であるが、これでは、却つて、グルタミン合成は阻碍される様である。インシュリンを重積すると、脳髄アンモニア量は減少する。一方、切片のアンモニア産生は、あまり減少しない³²⁾。この場合は、むしろ、グルタミン合成の増加が見られず、電撃とは逆に、アンモニア産生、処理、両機構共、抑制せられているのであろう。

さて、次は、ヒロポン、並びにリタリンの慢性投与であるが、何れも、グルタミン合成系を阻碍する様である。つまり、両薬剤を慢性に与えてゆけば、グルタミン合成能の活性が低下するという事になる様で、ヒロポンもリタリンも、共に急性に与えると、脳髄アンモニアを増加せしめ、逆に、慢性に与えてゆくと、アンモニアは減少の態度³⁴⁾をとり、丁度電撃と同じ傾向を示す薬剤である。従つて、グルタミン合成についても、電撃と同様な態度をとつてもよさそうであるが、事実はこれに相異しているのであつて、電撃と、これら薬剤投与とでは、何か大きな差異がなければならぬ。第6表をみると、両者で大きな相異を示す点は、グルタミンの態度である。電撃重積で、グルタミンが増加しているに反し、二者の薬剤投与では、却つて減少している。従つて、グルタミン合成能の低下は、この点から説明がつくのかも知れない。また、電撃とヒロポンの相異が、前者は、精神病の治癒機転を、後者は人工的精神病

と称されるヒロポン中毒症状をさえ導くものであり、この相異が、また、前述のグルタミン合成に与える影響と、なんらかの関係を有するものと考えられる。

総 括

各種処置大黒鼠脳髄 extract のグルタミン合成能を、Conway 微量拡散分析法を用いて測定した。incubation は、pH. 7.2, 気相は空気, 37°C, 25分間行つた。

① 電撃重積大黒鼠脳髄 extract のグルタミン合成能は、対照に比し、昂進を示していた。値は、平均、2.21 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であつた。

② インシュリン衝撃を重積したものでは、平均 1.04 $\mu\text{M}/\text{tube}$ で、対照よりも低下を示していた。

③ ヒロポン慢性投与群では、平均 0.91 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であつた。

④ リタリン慢性投与群では、平均、1.10 $\mu\text{M}/\text{tube}$ であつて、共に、対照に比し、低下を示していた。

稿を終えるにあたり、御指導並びに御校閲を賜つた奥村教授に謹んで感謝の意を捧げると共に、河井講師の御助言に深謝致します。

また、実験に際し、終始御協力を頂いた、文部教官長田堯氏並びに教室員各位に、心よりの謝意を表します。

文 献

- 1) Tashiro: Am. J. Physiol., 60, 519, 1922.
- 2) Conway: 微量拡散分析法及び誤差論, 石坂音治訳.
- 3) 塚田, 高垣: 科学, 23, No. 12, 629, 1953.
- 4) Richter, D. and Dawson, R. M. C.: J. B. C., 176, 1199, 1948.
- 5) Geiger, A. et al.: Science, 118, 655, 1953.
- 6) Bülow, M. and Hohmes, E. G.: Biochem. Z., 245, 459, 1932.
- 7) Krebs, H. A.: Biochem. J., 29, 1951, 1935.
- 8) Winterstein, H.: Naturwissenschaft, 21, 22, 1933.
- 9) Weil-Malherbe, H.: Biochem. J., 44, 159, 1949.
- 10) Dickens, F. and Greville, C. D.: Biochem. J., 29, 1468, 1935.
- 11) Vladimirova, E. A.: 神経系の生化学, 松本淳治訳, 45, 1957.
- 12) Riebeling, C.: Zschr. f. N. u. P., 157, 418, 1937.
- 13) 塚田: 酵素化学レンボジウム, 10, 165, 1954.
- 14) 塚田: 酵素化学レンボジウム, 11, 1, 1956.
- 15) Weil-Malherbe, H.: Biochem. J., 61, 210, 1955.
- 16) 河田: 岡医誌, 70 (6), 2285, 1958.
- 17) Örström, A., Örström, M., Krebs, H. A. and Eggleston, L. V.: Biochem. J., 33, 995, 1939.
- 18) Cohen, P. P. and Hayano, M.: J. B. C., 166, 239, 1944.
- 19) Cohen, P. P. and Hayano, M.: J. B. C., 172, 405, 148.

- 20) Leuthardt, F. and Bujard, E. : *Helv. Med. Acta.*, **14**, 274, 1947.
- 21) Speck, J. F. : *J. B. C.*, **179**, 1378, 1405, 1949.
- 22) Speck, J. F. : *J. B. C.*, **168**, 403, 1947.
- 23) Frei, J. and Leuthardt, F. : *Helv. Chem. Acta.*, **32**, 1137, 1949.
- 24) Elliott, W. H. and Gale, E. F. : *Nature*, **161**, 129, 1948.
- 25) Elliott, W. H. and Gale, E. F. : *Nature*, **161**, 128, 1948.
- 26) Harris : *J. Clin. Invest.*, **22**, 569, 1943.
- 27) Benitenz, D., Pscheidt, G. R. and Stone, W. E. : *Am. J. of Physiol.*, **179**, 488, 1954.
- 28) Dawson, R. M. C. : *Biochem. Biophys. Acta.*, **11**, 548, 1953.
- 29) Cravioto, R. O. et al. : *Proc. Soc. Expl. Biol. Med.*, **79**, 856, 1951.
- 30) 伊原 : 岡医誌, **70**, (1), 1, 1958.
- 31) 河田 : 岡医誌, **70**, (4), 1103, 1958.
- 32) 河田 : 岡医誌, **70**, (4), 1107, 1958.
- 33) 藤田 : 岡医誌, **70**, (4), 1331, 1958.
- 34) 伊原 : 岡医誌, **70**, (11), 4219, 1958.
- 35) 太田 : 岡医誌, **71**, (5), 1, 1959.
- 36) 太田 : 岡医誌, **71**, (5), 7, 1959.

Nitrogen Metabolism of the Brain

Part 16 Studies on the Activities of Glutamine Synthesis in the Brain Extract of the Rats Treated with Various Methods.

By

Tsuneko Ōta

Department of Neuropsychiatry, Okayama University Medical School
(Director : Prof. Nikichi Okumura)

The activities of glutamine synthesis in the brain extract of the rat treated with various methods, were observed by means of the Conway's microdiffusion analysis. The brain extract were incubated at 37°C, pH 7.2 for 25 minutes under aerobic condition.

1) The activity of glutamine synthesis in the rat' brain extract treated with intensive electro-shock series, averaged 2.21 μ M per tube and showed an increase in comparison with the control value.

2) In the insulin shock series it was 1.04 μ M per tube in average and was a lower level than the control value.

3) The activity averaged 0.91 μ M per tube in the Philopon (Pervitin) administration series.

4) In the Ritalin treatment series its average activity was 1.10 μ M per tube and so Philopon and Ritalin decreased in its comparative activities with the control.