

## ACTH の脳組織に及ぼす影響に関する研究

## 第 II 編

正常マウス脳組織及び副腎剔出頸動脈結紮ラット脳組織に対する  
呼吸及び嫌気性解糖に及ぼす ACTH の影響

岡山大学大学院医学研究科平木内科

高 原 二 郎

〔昭和 42 年 3 月 17 日受稿〕

## 目 次

第 1 章 緒 言	
第 2 章 動物実験 II	
頸動脈結紮ラット脳組織の呼吸及び嫌 気性解糖に及ぼす ACTH の影響	
1. 実験目的	
2. 実験材料	
3. 実験方法	
4. 実験成績	
1) 呼 吸	
i) 無処置群	
ii) 右頸動脈結紮群	
iii) 右頸動脈結紮・ACTH-Z 注射群	
iv) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出群	
v) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出・ ACTH-Z 注射群	
2) 嫌気性解糖	
i) 無処置群	
ii) 右頸動脈結紮群	
iii) 右頸動脈結紮・ACTH-Z 注射群	
iv) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出群	
v) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出・ ACTH-Z 注射群	
5. 小括並びに考按	
第 3 章 動物実験 III	
In vitro に於ける正常マウス脳組織呼 吸及び嫌気性解糖に対する ACTH の 影響	
1. 実験目的	
2. 実験材料	
3. 実験方法	
4. 実験成績	
1) 呼 吸	
2) 嫌気性解糖	
5. 小括並びに考按	
第 4 章 本編の総括並びに結論	
第 5 章 全編の考按並びに結論	

## 第 1 章 緒 言

私は第 1 編に於いて ACTH 治療を受けた神経系疾患患者の治療統計を行った結果、約 70% に有効であり、特に日本脳炎、パーキンソン氏症候群、小舞踏病に著効を示し、また症状別統計においては発熱、意識障害、不随意運動、筋強剛に著効を見るものが多く、更に脳軟化症、脳出血に於いても意識障害に著効を示し運動障害、言語障害に対しても有効であった。私は ACTH が副腎皮質を介さずに脳組織に作用する機序も考えられると仮定し副腎剔出犬に於いてゴマ油による脳栓塞を作成、RIHSA を利用して

ACTH の血脳関門防衛能の有無を検索し、ACTH には副腎皮質を介せずして直接脳組織脳血管に作用するかまたはステロイド作用を増加させることにより血脳関門を防衛する能力を有することを推察させる成績をえた。しかし、慢性実験は実験動物の死亡により失敗し、ACTH が直接脳組織に作用して血脳関門防衛能を有するのか Steroid 作用を増強することにより血脳関門防衛能を有するのかを明かにできなかつた。私は動物と実験方法を改める事により慢性脳浮腫に於ける ACTH の作用を検討した。即ち成熟ラットの両側副腎を剔出し ACTH-Z を 3 日間注射を行い、断頭開頭後 Warburg 直接法にて呼吸及

び嫌気性解糖につき検索した。更に *in vitro* に於いて脳組織に ACTH を添加，上記実験と同じく Warburg 直接法にて呼吸及び嫌気性解糖につき検索した。

既に *in vitro* における脳組織の呼吸及び解糖を初め *in vivo* に於ける脳血流量，脳酸素消費量等についての研究は Warburg<sup>1)</sup>，Schmidt<sup>2)</sup>，Kety<sup>3)</sup> により詳細に研究されており，Steroid Hormone の脳代謝に及ぼす影響については Alman<sup>4)</sup>，Schieve Scheinberg<sup>5)</sup>，Sensenbach，Madison and Ochs<sup>6)</sup> らは  $N_2O$  法により Corticoids 使用者の脳循環を検索しており，酸素消費量，ブドウ糖消費量には影響を認めず，脳血流量の減少，血管抵抗の増加を認めている。しかるに ACTH そのものの脳代謝に及ぼす影響に関する実験的研究はまったく行われていない。

## 第2章 動物実験II

頸動脈結紮ラッテ脳組織の呼吸及び嫌気性解糖に及ぼす ACTH の影響

### 1. 実験目的

緒言に述べた如く第1編での実験では急性実験のみで ACTH の脳組織へ直接関与しているか否かは証明出来なかつた。そこでこの実験では両側副腎を剔出した後なお長時間生存さす事により Corticoids の関与を出来るうるかぎり除く事に務め，ACTH の副腎皮質及び可能な限り Steroid を介さない脳浮腫組織への作用を検索せんとした。

### 2. 実験材料

実験動物：150~200g の Wister 系または雑系ラッテを使用した。

Warburg 検圧計

使用薬剤：Organon 社製 ACTH-Z

Krebs-Ringer 溶液 (300mg/l ブドウ糖を添加したもの)

### 3. 実験方法

同一日に下記の如く処置したラッテを72時間後に断頭をもって殺し，開頭後その大脳皮質につき Warburg 直接法にて呼吸及び嫌気性解糖を測定した。

- 1) 無処置 (対照) ラッテ
- 2) 右頸動脈結紮ラッテ
- 3) 右頸動脈結紮・ACTH-Z (1単位/100g 3日間) 注射ラッテ
- 4) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出ラッテ
- 5) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出・ACTH-Z (1

### 単位3日間) 注射ラッテ

頸動脈結紮はラッテをエーテル麻醉下に頸部に小切開を加え頸動脈を糸糸により二重結紮を行った。また副腎剔出は切毛後背部に横切開を加え腹膜外法にて両側副腎を剔出 (所要時間は3分~5分) した。ACTH-Z は1日1回臀筋または背筋に注射した。Warburg 検圧計での呼吸及び嫌気性解糖の測定法は次の如くである。上記の如く処置したラッテを安静状態におき缺にて瞬時断頭し直ちにその脳を取り出し，頸動脈結紮側の脳皮質を冷却した Krebs Ringer 溶液中につけ薄刃の安全カミソリにて厚さ 0.5 mm 以下の薄片を作成した。切片重量は検圧後  $60^{\circ}C$  48時間乾燥後化学天秤にて秤量した。組織呼吸は Warburg 直接法により，実験都度作成せるブドウ糖 300mg/l 添加 Krebs-Ringer 溶液を浮遊液として，酸素をもつてガス腔を飽和し， $37.5^{\circ}C$  の恒温槽を用いて15分間予備振盪後，酸素消費量を30分ないし60分間測定した。断頭より予備振盪終了までの時間は40~60分であつた。また嫌気性解糖は  $N_2$  ガス95%， $CO_2$  ガス5%に容器内のガス腔を飽和し， $37.5^{\circ}C$  の恒温槽にて15分間予備振盪後発生する  $CO_2$  量を測定した。実験結果は呼吸は  $Q_{O_2}$ ，即ち乾燥重量1mg 当り毎時消費される  $O_2$  量 cmm で表わし，また嫌気性解糖は  $Q_{N_2}$ ，即ち乾燥重量1mg 当り毎時放出される  $CO_2$  量 cmm で表わした。

### 4. 実験成績

#### 1) 呼吸 (図1, 表1)

図1 ラッテ脳浮腫の大脳皮質の呼吸率

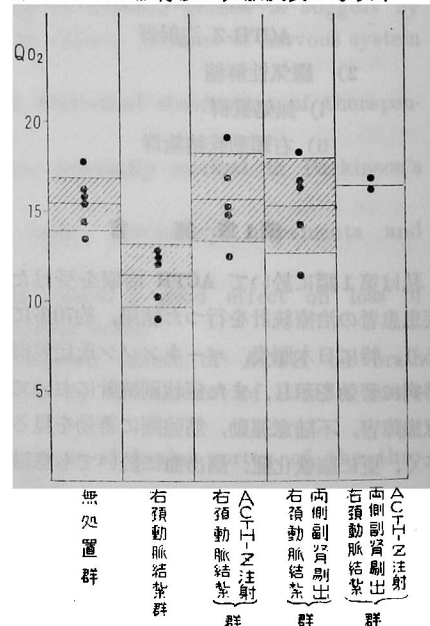


表 1 頸動脈結紮法による脳浮腫ラット大脳皮質の呼吸率

(Warburg 法)

QO <sub>2</sub>	無処置群	右頸動脈結紮群	右頸動脈結紮 ACTH-Z 注射群	右頸動脈結紮 両側副腎剔出群	右頸動脈結紮 両側副腎剔出 ACTH-Z 注射群
No. 1	15.8	12.9	16.8	16.2	—
No. 2	13.4	9.0	19.1	16.4	—
No. 3	17.8	12.7	14.9	11.4	—
No. 4	15.8	12.2	15.1	18.2	16.6
No. 5	14.3	10.1	12.4	14.2	16.4
平均及び 標準偏差	15.4±1.3	11.4±1.7	15.7±2.5	15.3±2.6	16.5

## i) 無処置群

QO<sub>2</sub> は最高17.8, 最低13.4であり平均は15.4で標準偏差は1.3であつた。

## ii) 右頸動脈結紮群

QO<sub>2</sub> は最高12.9, 最低9.0で平均は11.4, 標準偏差は1.7であり, 無処置群に比して平均で4.0低く百分率では26%の低下が認められた。

## iii) 右頸動脈結紮・ACTH-Z 注射群

QO<sub>2</sub> は最高19.1, 最低12.4とかなりのばらつきが見られた。平均では15.7標準偏差2.5であり右頸動脈結紮群の11.4±1.7と明かに高かつたが無処置群との差は認められなかつた。

## iv) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出群

QO<sub>2</sub> は最高18.2, 高低11.4で平均は15.3であつた。また標準偏差は2.6であり, 右頸動脈結紮・ACTH-Z 注射群とはほぼ同様の結果を得た。

## v) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出・ACTH-Z 注射群

この群は両側副腎剔出による低ステロイド状態に ACTH-Z と云う異種蛋白の注射による Shock により死亡したものが多く, わずか2匹しか残存しなかつた。QO<sub>2</sub> は16.4, 16.6とほぼ等しい値であり頸動脈結紮群より高値であつた。

## 2) 嫌気性解糖 (図2, 表2)

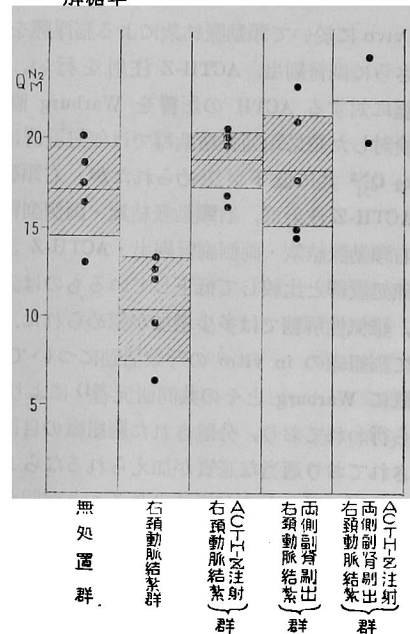
## i) 無処置群

QN<sub>M</sub><sup>2</sup> は最高20.0, 最低13.0であり, 平均値は17.1, 標準偏差2.6であつた。

## ii) 右頸動脈結紮群

QN<sub>M</sub><sup>2</sup> は最高13.2, 最低6.2, 平均値10.7で標準偏差は2.9であり無処置群に比して明かな

図2 ラット脳浮腫の大脳皮質の嫌気性解糖率



低下が認められた。

## iii) 右頸動脈結紮・ACTH-Z 注射群

QN<sub>M</sub><sup>2</sup> は最高値20.9, 最低値16.0で平均値18.7, 標準偏差3.1であり無処置群に比しても高い値であつた。

## iv) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出群

QN<sub>M</sub><sup>2</sup> は最高値22.9, 最低値14.4であり, 平均値は18.1, 標準偏差3.4であり, 右頸動脈結紮・ACTH 群よりは低値であるが, 無処置群に比してもやや高値を示した。

## v) 右頸動脈結紮・両側副腎剔出・ACTH-Z 注射群

QN<sub>M</sub><sup>2</sup> は19.6, 24.4と他の群より高値を示した。

表 2 頸動脈結紮法による脳浮腫ラット大脳皮質の嫌気性解糖 (Warburg 法)

Q <sub>M</sub> <sup>N<sub>2</sub></sup>	無処置群	右頸動脈結紮群	右頸動脈結紮 ACTH-Z 注射}群	右頸動脈結紮 両側副腎剔出}群	右頸動脈結紮 両側副腎剔出 ACTH-Z 注射}群
No. 1	13.0	6.2	16.0	14.8	—
No. 2	18.5	13.2	20.9	22.9	—
No. 3	16.5	12.0	19.9	14.4	—
No. 4	20.0	9.6	16.6	17.6	19.6
No. 5	17.3	12.5	20.3	20.9	24.4
平均及び 標準偏差	17.1±2.6	10.7±2.9	18.7±3.1	18.1±3.4	22.0

## 5. 小括並びに考按

In vivo に於いて頸動脈結紮による脳浮腫を作成し、さらに副腎剔出、ACTH-Z 注射を行い、慢性脳浮腫に対する ACTH の影響を Warburg 直接法にて検討した結果頸動脈結紮群では無処置群に比して Q<sub>O<sub>2</sub></sub> Q<sub>M</sub><sup>N<sub>2</sub></sup> 共に低下が認められたが、右頸動脈結紮・ACTH-Z 注射群、右頸動脈結紮・両側副腎剔出群、右頸動脈結紮・両側副腎剔出・ACTH-Z 注射群では無処置群と比較して低下しているものは認められず、嫌気性解糖では多少増加が認められた。

さて脳組織の in vitro の呼吸活動についての研究は既に Warburg とその共同研究者<sup>1)</sup>により 1923 年から行われており、分離された脳組織の自律性は証明されており適当な基質が加えられるなら in situ の脳の代謝に近いものが維持されることが明かにされている。Warburg はブドウ糖を含む Ringer 溶液中でのラットの脳切片の酸素係数 Q<sub>O<sub>2</sub></sub> は 10.7 であると報告しており、また Towett ら<sup>2)</sup>は他の溶液で更に高い値を報告している。溶質は血清成分に比較的近いものが良く、特にブドウ糖は脳組織での呼吸代謝に欠かせないものであり、ブドウ糖を加えることにより呼吸は飛躍的に増大することが知られている。すなわちブドウ糖濃度は 0 から 30 mg/dl に増量することにより脳組織呼吸はそれに比例して増加するが、それ以上増量しても呼吸は増大しないと云われている。また Dickens ら<sup>3)</sup>は K<sup>+</sup> の濃度を 100 mEq/l に高めると脳切片の呼吸はブドウ糖溶液中での 2 倍近くまで増加することを見出し、これは K<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup> 比の増大によるものであることを明かにしている。In vitro の条件はどのみち in vivo の条件をそのまま再現するものでありえないことは明かであるが、Elliott と Heller<sup>4)</sup>は大脳皮質、小脳皮質、白質及びグリア細胞腫の呼吸の測定と細胞

密度の算定の結果から大脳皮質の呼吸は大部分 Neuron によるものであることを推定している。脳組織の代謝は普通ブドウ糖を基質とする呼吸が活潑であることは云うまでもないが、また嫌気的にブドウ糖を解糖し消費する活性も非常に高い。解糖反応は Embden-Meyerhof の式でまとめられており、ブドウ糖の嫌気的分解によつて 2 分子の ATP が合成されるが、ブドウ糖の完全酸化により合成される ATP 量よりは遙かに少ない。脳の代謝活動のエネルギーは殆んど悉くブドウ糖の酸化的分解から来るのであり、ブドウ糖の嫌気的分解によるエネルギーが神経系の活動にどれほどの意味があるか明かでない。次に組織標本については Warburg<sup>10)</sup>、Field<sup>11)</sup>は 0.35 mm 以上の厚さであると組織におけるブドウ糖と酸素の拡散が充分になされず呼吸係数は低下すると述べており、また組織の大きさは、100~0.01 mg の範囲では呼吸率に認むべき変化はないとされている。切り出した脳組織は、しめつた大気中で 0° に維持すれば呼吸、解糖にたいする応答は 2 時間後にほとんど侵されておらず、また乳酸発生もないことが認められている。私の実験は上記の事実立脚したものであり、第一編で推察された ACTH の副腎皮質を介さない作用を慢性実験にてさらに明かにする為である。

さて、次に私の実験結果について考察をするに、呼吸については無処置群では Q<sub>O<sub>2</sub></sub> は 15.4 であり Warburg の報告よりは高値であつたが、標準偏差は 1.3 であつた。右頸動脈結紮群では 11.4、標準偏差 1.7 であり明かに無処置群より Q<sub>O<sub>2</sub></sub> の低下が見られ頸動脈結紮により脳組織呼吸の低下が推察された。この事実は頸動脈結紮により脳虚血、脳浮腫が起りその為に組織呼吸の低下が起つたことによるものと思われ、第一編において実験を行つたゴマ油による脳浮腫と近い代謝条件だと推察しており、脳浮腫の

慢性実験と考える事は可能であろう。右頸動脈結紮群では組織呼吸の低下が認められたが他の群では呼吸低下はほとんど認められなかった。ここで注目すべき事は頸動脈結紮・副腎皮質剔出群及び頸動脈結紮・両側副腎皮質剔出・ACTH 注射群においてもなお組織呼吸は低下せず維持された事である。これについては種々の事が考えられ明確なる結論は得られないが、その一つ一つについて検討を加えて見る。まず第一に頸動脈結紮による脳浮腫は結紮後短期間のものであり、手術による Corticoids の多量の分泌により血脳関門は防衛され過 Corticoids の状態が去つた時には結紮による影響は見られない為であるとする考えがある。これに対しては副腎剔出は横切開をしてから5分間以内で行われ、その後直ちに頸部を切開露出し頸動脈結紮を行つたがその所要時間も約2~4分であつた。手術により ACTH の増加及び Corticoids の増加が見られる事は多数の人々により明かにされているが、手術開始何分後より ACTH がどれだけの量増加するかについての報告は見られない。また人間においては ACTH 投与後、Corticoids は増加するが最大に達するのは30~1時間後であり、ラッテにおいても手術開始より5~8分後においては Corticoids の著明な増量はないものと推定される。更に結紮が短期間のみ作用するか否かについては何ら証明すべきものはなく、頸動脈結紮群では明かに無処置群に比して呼吸は低下しており、結紮の影響が短期間のみとは考え難い。第2の考えとしては、第一編でも記した如く ACTH には Corticoids 作用を増大せしめる作用が認められているが、この Corticoids 増大作用により説明せんとするもので、副腎剔出により Feedback が抑制される為過剰の ACTH の分泌が見られることは明かであり、この過剰の ACTH が血中にある Corticoids の作用を増大し、より早く血脳関門を修復しさらに Neuron にまで作用して呼吸の低下を回復せしめたことによるものである。この考え方を成立さす為には一つの条件が必要である。即ち結紮は比較的短時間のみ作用し、3日目にはすでに回復期間に入つており頸動脈結紮も自然回復の途上にあると考えるならこの考え方も可能と思われる。第3の考え方としては ACTH 自身に脳浮腫を軽減し脳組織呼吸を促進する作用が存在するとする考えである。私は緒言にも記した如く、ACTH 自身の直接作用を証明したいのであるから第3の考えは大変魅力的ではあるがこの実

験からは第3の考え方を証明するに至らなかつた。即ち、副腎剔出ラッテに於ける慢性実験であり ACTH そのものの作用が示されているとも考えられるのであるが、生体が生存している限り Corticosteroids は存在しており、ACTH 自身に Corticoids の不活性化の抑制及び Corticoids の作用自身の増強作用が存する限り in vivo の実験では ACTH そのものの作用を証明したことになるが、また頸動脈結紮・副腎剔出群と頸動脈結紮・副腎剔出・ACTH-Z 注射群との間に有意の差が見られていないことも ACTH 自身が組織呼吸を促進する作用を有するとするには多少難が認められた。しかし、反対に頸動脈結紮・副腎剔出群と頸動脈結紮・副腎剔出・ACTH-Z 注射との差が認められなかつた事より直ちに第3の考え方は否定され難く、頸動脈結紮・ACTH-Z 注射群においてさえ無処置群との差は認められない所を考慮に入れて考えるに、ACTH 及び Corticoids は生体を Homeostasis の状態に維持すべき能力は有するがそれ以上に促進する力は有していないと考えるなら第3の考え方と全く否定されるべきものではない。上記の事より第一編の実験と同様に ACTH は Corticoids の作用を増強するかまたは ACTH 自身が脳組織に作用して、組織呼吸の低下を正常にまで復帰させる能力を有すると推察されたが、この実験においても ACTH 自身の脳組織に対する直接作用は証明されなかつた。

嫌気性解糖においても呼吸と同様な傾向が見られ呼吸よりも各群間の差はより明かであり呼吸において考察したと同様の事が考えられる。しかし嫌気性解糖が生体内でいかなる働きをしているか明かでない以上多く取上げることはさけない。

最後に文献的に一・二考察を加えるに Kety<sup>12)</sup>を初め多くの人々は Corticoids は脳の酸素消費には殆んど或は全く影響をえ与えないとしており、また Hayano<sup>13)</sup> は Desoxycorticosterone (DOC) は脳組織の Homogenate の酸素消費を著明に抑制することを、更に Eisenburg<sup>14)</sup> は同じく DOC はラッテ脳の嫌気性解糖を抑制することを報告している。これに反して 芥藤<sup>15)</sup> は副腎皮質ホルモンが脳酸素消費量を増大せしめると述べており、また Bergen ら<sup>16)</sup> は副腎剔出により脳血流量、酸素消費量の減少及び脳波において平均脳波数の減少を認め、副腎抽出物、Prednisolone はそれらを回復せしめると述べている。

## 第3章 動物実験Ⅲ

In vitro における正常マウス脳組織  
呼吸及び嫌気性解糖に対する ACTH  
の影響

## 1. 実験目的

実験Ⅰ及び実験Ⅱにおいて ACTH が副腎皮質を介さない作用がある事を確認したが、Corticoids 作用を増強することによるかまたは、ACTH 自身が脳組織に作用しているかこの二つの実験が in vivo の実験であったため確認出来なかつた。このため in vitro の実験を行い ACTH 自身が脳組織に作用しているか否かを明かにせんとした。

## 2. 実験材料

雑系マウス

Warburg 検圧計

使用薬剤：Organon 社製 ACTH

Krebs Ringer 溶液 (300mg/l ブドウ糖を添加したもの)

## 3. 実験方法

雑系マウス断頭により殺し、開頭後その大脳を剔出 0°C 冷却した Krebs-Ringer 溶液中にて大脳皮質を冷却し、薄刃のカミソリにて厚さ 0.5mm 以下の薄片を作成した。切片重量は検圧後、60°C 48時間乾燥後、化学天秤にて秤量した。組織呼吸及び解糖は Warburg 直接法により測定した。主室にはブドウ糖 300 mg/l 添加 Krebs-Ringer 溶液を浮遊液として脳組織を浮かし側室には ACTH を混合液が 1.0, 0.1, 0.01 u/cc になる様に入れ、30分間振盪後側室の ACTH 溶液を主室の Krebs-Ringer 溶液と混合以後 30分ないし 60分間呼吸及び解糖を測定した。

## 4. 実験成績

1) 呼 吸 (表3)

表3 正常マウス大脳皮質の呼吸率に及ぼす ACTH の影響

(Warburg 法)

QO <sub>2</sub>	10分 cmm/mg·hr	20分 cmm/mg·hr	30分 cmm/mg·hr	40分 cmm/mg·hr	50分 cmm/mg·hr	60分 cmm/mg·hr
対 照 群	3.42±0.38	6.58±0.54	10.12±1.20	13.67±1.44	17.53±1.99	21.22±0.85
1.0単位 ACTH 添 加 群	3.71±0.91	6.89±0.80	9.80±0.39	12.02±0.45	14.11±1.02	16.12±1.32
0.1単位 ACTH 添 加 群	3.64±1.07	6.61±0.71	10.37±0.99	13.54±0.92	16.01±0.91	19.08±0.99
0.01単位 ACTH 添 加 群	3.30±0.72	6.07±1.79	9.18±0.83	13.55±1.24	18.05±1.87	21.15±2.64

対照群は 30' で 10.12±1.20, 60' で 21.22±0.85 であり ACTH 添加群では 1.0 u/cc 添加群では 30' で 9.80±0.39, 60' では 16.12±1.32 と対照群に比して軽度の低下が認められた。また 0.1 u/cc 添加群では 30' で 10.37±0.99, 60' では 19.08±0.99 と対

照群と有意と思われる差は見られなかつた。更に 0.01u/cc でも 30' は 9.18±0.83, 60' で 21.15±2.64 と対照群に比して差は認められなかつた。

2) 嫌気性解糖 (表4)

対照群の Q<sub>M</sub><sup>N2</sup> は 60' で 14.0 ± 0.77, 1.0 u/ml

表4 正常マウス大脳皮質の嫌気性解糖に及ぼす ACTH の影響

(Warburg 法)

Q <sub>M</sub> <sup>N2</sup>	10分 cmm/mg·hr	20分 cmm/mg·hr	30分 cmm/mg·hr	40分 cmm/mg·hr	50分 cmm/mg·hr	60分 cmm/mg·hr
対 照 群	2.82±0.43	5.61±0.62	7.56±1.31	9.43±1.20	11.68±1.84	14.0±0.77
1.0単位 ACTH 添 加 群	2.76±0.54	5.45±0.71	7.64±0.89	11.72±1.12	14.81±1.32	17.6±1.64
0.1単位 ACTH 添 加 群	2.84±0.66	5.52±0.60	7.61±0.64	9.03±0.87	11.54±0.92	14.0±1.22
0.01単位 ACTH 添 加 群	2.79±0.39	5.86±0.96	7.70±0.81	10.12±1.06	12.62±1.68	15.1±2.14

ACTH 添加群の  $Q_M^{N_2}$  は 60' で 17.6 で増加が見られたが、0.1 u/ml 及び 0.01 u/ml 添加群の  $Q_M^{N_2}$  の 60' 値は 14.0, 15.1 で対照群と比較して有意な差は見られなかった。

#### 5. 小括並びに考按

以上の結果より、脳組織呼吸は *in vitro* において ACTH の影響は殆んど受けず、ただ高濃度において僅かに抑制されるのみである事が明かにされた。また嫌気性解糖では呼吸とは反対に高濃度において軽度の促進が認められた。しかし呼吸と同様、低濃度に於いては影響が認められなかった。即ちこれらの事より ACTH は *in vitro* では脳組織の呼吸及び嫌気性解糖には影響しないことが明かにされ、私が仮定していた ACTH 自身が直接脳組織に影響をあたえる可能性については証明されなかった。しかしこの *in vitro* の実験で直接作用が認められなかった事だけで直ちに ACTH が脳組織に直接的に作用する可能性は否定されるものではなく、*in vitro* と *in vivo* の差を考えると一概には結論は出せない。

#### 第4章 本編の総括並びに結論

第一編に於いて神経系疾患の ACTH 治療の統計及び副腎剥出犬の脳浮腫に対する影響につき研究を行い ACTH には副腎皮質を介さない作用の存する事を推察したが、急性実験であつた為、ACTH の直接作用か否か証明出来なかつた。本編に於いてはラッテ頸動脈結紮による脳浮腫に対する慢性実験及び *in vitro* に於ける正常脳組織に対する ACTH の影響を Warburg 法にて観察し次の結果をえた。

i) 右頸動脈結紮群の  $QO_2$  は 11.4 であり無処置群の  $QO_2$  15.4 とは明かに低下を示したが、これに対して頸動脈結紮・ACTH 注射群、頸動脈結紮・両側副腎剥出群並びに頸動脈結紮・両側副腎剥出・ACTH 注射群では 15.7, 15.3, 16.5 であり無処置群とは差が認められなかった。

ii) 嫌気性解糖に関しては頸動脈結紮群の  $Q_M^{N_2}$  は 10.7 で無処置群の  $Q_M^{N_2}$  17.1 とは明かに低下しており、他の 3 群は呼吸と同様に低下は認められず、むしろ右頸動脈結紮・ACTH 注射群及び右頸動脈結紮・両側副腎剥出・ACTH 注射群では 20.7, 22.0 と上昇が認められた。

iii) *In vitro* に於ける正常脳組織の呼吸及び嫌気性解糖に及ぼす影響については ACTH の添加による影響はほとんど認められず、わずかに高濃度において呼吸の低下及び嫌気性解糖の上昇が認められ

た。

上記の成績より下記の結論がえられた。ACTH は *in vivo* において ACTH 自身が脳組織（脳血管）に作用するかまたは Corticoids の作用を増強することにより組織呼吸及び解糖の低下を正常にまで回復させる能力を有するが *in vitro* に於いては ACTH は脳組織の呼吸及び嫌気性解糖には影響が認められなかった。

#### 第5章 全編の考按及び結論

ACTH は 39 個のアミノ酸より成る分子量約 4,500 の Peptide であり、random coil 型を示す分子で 2 次或は 3 次構造を欠いている<sup>17)</sup>、 $\alpha$ 1-24 ACTH には天然 ACTH と同程度の生物学的活性が認められており<sup>18)</sup>、最近では ACTH の合成が行われており、

その機能と活性についての研究が活潑であり、副腎の receptor との結合部位及び作用部位<sup>19)</sup> も想定されている。又 Corticoids 合成における ACTH が作用する step も Cholesterol から Pregnenolone への移行部、特に Cholesterol の 20 $\alpha$ OH 化の step と想定<sup>20)21)</sup> されており、更に ACTH の細胞内での作用部位も Mitochondria であろうとされている<sup>22)</sup>。

Enzyme レベルでの作用機序も Haynes-Berthé<sup>23)</sup> が ACTH は副腎の Cyclic-AMP の産生を刺戟することで副腎内の Phosphorylase 活性を高め Glycogen より G-1-P, G-6-P, Hexose monophosphate の代謝を促進しその際産生される TPNH が Corticoid 合成に必要な水素供与体となり合成を促進すると述べている。これに対して、最近 Faress<sup>24)</sup> Ferguson<sup>25)</sup> らは ACTH は副腎の核酸蛋白代謝合成機構に関与し Corticoid 合成分泌を促進するものであつて、Phosphorylase の関与は少ないと述べており、ACTH の Corticoid 合成の作用機序がしだいに明らかになつてきている。一方、ACTH の副腎外作用も重視されてきており、古くは Noble<sup>26)</sup>、Jacot<sup>27)</sup>、Pincus<sup>28)</sup>、Ingle<sup>22)</sup> Rosenberg<sup>30)</sup> らより種々の副腎外作用が報告され、最近 Engel 及び Lebovity<sup>31)32)</sup> 33)34)35) 一派の詳細な報告がある。その中で特に脂質動員作用、インシュリン分泌刺戟作用並びに抗インシュリン作用については Engel<sup>36)</sup> 及び Westermeyer<sup>37)</sup> の研究が見られ ACTH には膵臓を刺戟して insulin 分泌を促進する一方分泌された insulin に対しては組織で拮抗すると云う矛盾した両面性を有している。MSH 様作用<sup>38)</sup> については古くから知られており MSH と ACTH と分子構造が一部同じで

あることから理解されている。

又その他の *Extradrenal action* も報告されているが脳組織に対する研究は全く見られない。私は神経系疾患の ACTH 治療の統計を行ない約 70 名に有効であつた事を認め、又それらの症例の中に Steroid 治療よりもはるかによい治療効果を挙げたものがあつた事、更に Blick-Nick-Salam においては ACTH が特異的に有効である事等<sup>39) 40) 41) 42) 43) 44)</sup>により ACTH に副腎を介さない脳組織に対する作用があると想定し、1 編、2 編に示した 3 つの実験を行なつた。実験 I では副腎剔出犬を用いゴマ油による脳浮腫を作成した際の血脳関門防衛能を検索し、ACTH にも副腎皮質を介さない血脳関門防衛能があることを推察し、実験 II では副腎剔出ラットを用いることにより頸動脈結紮による慢性脳浮腫を作成し、ACTH の副腎剔出後に於ける脳浮腫に対する影響を Warburg 直接法により呼吸及び嫌気性解糖を見、実験 I と同様に脳浮腫に対し ACTH 製剤は副腎皮質を介さない作用が存在することを確認した。しかるに慢性実験であるが *in vivo* の実験の為 Corticoids の作用も完全には否定出来なかつた。実験 III に於いては実験 II と同じく Warburg 法により各濃度の ACTH 溶液を添加した正常マウス大脳皮質の呼吸及び嫌気性解糖を測定したが ACTH による影響はほとんど認められなかつた。以上 3 つの実験を総括し考察するに実験 I, II は *in vivo* の実験であり、これらの実験からは DeMoor<sup>45) 46)</sup>, Berliner<sup>47) 48)</sup>, 草間<sup>49)</sup>らが報告している如く ACTH が Cortisol 代謝に影響を及ぼし Cortisol 作用を増加延長することにより血脳関門防衛能を増強し、あたかも ACTH

自身が脳組織に作用している如き感を与えるのか、又は実際 ACTH 自身が脳組織 (脳血管を含めて) に直接作用しているのか、或はその両者の混合作用であるのか等の可能性が示唆せられる。しかるに実験 III の *in vivo* の実験では正常の脳組織切片の呼吸及び嫌気性解糖には何ら影響を及ぼさないことが推察された。所で ACTH は 4500 の Polypeptid であり血脳関門をこのままでは通過するとは考えられず *in vitro* の実験は ACTH に関する限り非常に非生理的なものであつた。私は *in vivo* の実験に於いては Corticoids の作用が完全に否定出来ない為行なつたものであり、*in vitro* の結果で ACTH が脳組織呼吸及び嫌気性解糖に何ら影響を与えないとしても *in vivo* に於いて ACTH 自身脳組織に何ら影響を与えていないと結論するのは早計であろう。しかし何れにしても ACTH が直接脳組織に影響を及ぼしている何らの証拠もないため現在では次の如く推察するのが妥当であろう。即ち、ACTH は副腎皮質を介さず Corticoids に直接に作用し Corticoids の作用を増強延長する事により血脳関門防衛能を強化させ脳浮腫を軽減させる作用を有する。しかし又、上記の諸実験より ACTH が直接脳血管に作用し、血脳関門を増強する作用が存する可能性も充分にあると推察されるが、今後の蛋白質及び酵素学的研究に待たなければ結論を下しえない。

(御指導、御校閲を賜つた恩師平木教授、大藤助教授、喜多島講師及び協力して下さつた大里学士に深謝します。)

## 文 献

- 1) Warburg, O., Posener, K. and Negelein, E.: *Biochem. Z.* **152**: 309, 1924.
- 2) Schmidt, C. F., Kety, S. S. and Pennes, H. H.: *Am. J. Physiol.* **143**: 33, 1945.
- 3) Kety, S. S. and Schmit, C. F.: *J. Clin. Invest.* **27**: 476, 1948.
- 4) Alman, R. W. Bnd Fazekas, J. F.: *Arch. Neuro & Psychiat.* **65**: 680, 1951.
- 5) Schieve, J. F., Scheinberg, P. and Wilson, W. P.: *J. Clin. Invest.* **30**: 1527, 1951.
- 6) Sensenbach, W., Madison, L. and Ochs, L. J. *Clin. Invest.* **32**: 372, 1952.
- 7) Jowett, M. and Quastel, J. H.: *Biochem. J.* **31**: 1101, 1937.
- 8) Dickens, F. and Greville, G. D. *Biochem. J.* **29**: 1468, 1935.
- 9) Elliott, K. A. C. and Heller, I. H. *Metabolism of the Nervous System.* New York: Pergamon, 1957, P286.
- 10) Warburg, O.: *The Metabolism of Tumors.* Tr. F. Dickens. London. 1930.
- 11) Field, J.: *Meth. in. Med. Res.* **1**: 289, 1948.
- 12) Kety, S. S. In: *Metabolism of the Nervous System*, D. Richter. New York: Pergamon 1957, P. 221.



- 13) Hayano M., Schiller, S. and Dorfman, R. L. : *Endocrinol.* 46 : 387, 1950.
- 14) Eisenberg, E., Gordan, G.S., Elliot, H. W. and Talbot, J. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 73 : 140, 1950.
- 15) 齊藤義一 : 脳と神経. 14 : 379, 1962.
- 16) Bergen, J. R., Hunt, C. A. and Hoagland, H. : *Am. J. Physiol.*, 175 : 327, 1953.
- 17) Li, C. H. : *Recent Progr. Hormone Res.*, 18 : 1, 1962.
- 18) Bernardo Leo W. et al : *J. Clin. Endocri.* 24 : 1083, 1964.
- 19) Otsuka, H. et al : *J. Biochem.* 58 : 512, 1965.
- 20) Shimizu, K., et al : *J. Biol. Chem.* 236 : 695, 1961.
- 21) Koritz, S. B. : *Biochem. Biophys. Acta*, 59 : 63, 1962.
- 22) Nishikawa, M. et al : *Endocrinol.* 72 : 197, 1963.
- 23) Hagnes, R. C. T. and Berthet, L. J. *Biol. Chem.* 225 : 115, 1957.
- 24) Farese, R. and Reddy, W. J. *Endocrinol.* 73 : 294, 1963.
- 25) Ferguson, J. J. : *Ann. Ist. Med.* 60 : 925, 1964.
- 26) Noble, R. L. and Collip, J. B. : *Endocrinol.* 29 : 934, 1941.
- 27) Jacot, B. and Selye, H. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 78 : 46, 1951.
- 28) Pincus, J. B. and Natelson, S. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 78 : 24, 1951.
- 29) Ingle, D. J., Nezamis, J. E. and Morley, E. H. : *Endocrinol.*, 53 : 24, 1953.
- 30) Rosenberg : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 82 : 701, 1953.
- 31) Engel, F. L. : *Vitamin and Hormone.* 19 : 189, 1961.
- 32) Engel, F. L. and Lebovitz, H. E. : *Am. J. Med.* 35 : 721, 1963.
- 33) Engel, F. L. and Kostyo J. L. : *The Hormones* 5 : 69, 1964.
- 34) Lebovitz, H. E. and Engel F. L. : *Metabolism*, 13 : 1230, 1964.
- 35) Lebovitz, H. A. : *Proc. of 2nd International Congress of Endocrinology.* 2 : 1231, 1964.
- 36) Engel, F. L. and Engel, M. G. : *Endocrinol.* 55 : 1556, 1958.
- 37) Westermeyer, V. W. and Raben, M. S. : *Endocrinol.* 54 : 173, 1954.
- 38) Schwyzor, K. : *Ann. Rev. of Biochem.* 33 : 259, 1964.
- 39) Sorel, L. L. and A. Dusancy-Banloye : *Acta Neurol, Psychiat. Belg.* 58 : 130, 1958.
- 40) Fukuyama, Y., M. Nagahata, M. Arima, and Okada, Y. : *Paediat. Univ. Tokyo.* 4 : 12, 1960.
- 41) Külz von J. : *Nervenzarzt.*, 35 : 2, 1965.
- 42) Koch, F. U. A. Grütznier : *Münch. med. Wscr.* hr., 102 : 36, 1960.
- 43) Stamps, F. W., et al : *Dis. Nerv. Syst.*, 12 : 27, 1951.
- 44) Scheffner, D. U. H. Doose : *Med. Welt.* 37 : 1872, 1961.
- 45) De Moor, P., Hendrikx, A and Hinnekens, M. : *J. Clin. Endoc. & Metabo.* 21 : 106, 1961.
- 46) De Moor, P. & Hinnekens, M. : *Acta. Endocr.* 37 : 1, 1961.
- 47) Berliner, D. L. & Dougherty, T. F. : *Pharmacol. Review* 13 : 329, 1961.
- 48) Berliner, D. L., Keller N. & Dougherty, T. F. *Endocrinol.* 68 : 621, 1961.
- 49) 草間光俊 : 最新医学, 20 : 859, 1965.

## Studies on an Effect of ACTH on Brain Tissue

## Part II. Effect of ACTH on respiration and anaerobic glycolysis of the brain of normal mice and of rats removed of adrenal glands and ligated at carotid artery.

By

Jiro TAKAHARA

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School Okayama, Japan

(Director : Kiyoshi Hiraki)

The first part of this report is concerned with an effect of ACTH *in vivo* on chronic brain edema. Brain edema was produced by ligation of the carotid artery and the dog was killed by scaffold 3 days after removal of adrenal gland and ACTH-Z injection. Respiration and anaerobic glycolysis of the brain was examined by Warburg's direct method.

1) The group with the carotid artery ligated showed lower  $Q_{O_2}$  and  $Q_M^{N_2}$  than the control group.

2) In the group with the carotid artery ligated, and ACTH injection resulted in higher  $Q_{O_2}$  and  $Q_M^{N_2}$ .

3) The group with the carotid artery ligated and bilateral adrenal glands removed showed higher  $Q_{O_2}$  and  $Q_M^{N_2}$  than that with the artery ligated, and showed no difference from the control.

4) Ligation of the carotid artery, removal of the bilateral adrenal glands, and ACTH-Z injection resulted in higher  $Q_{O_2}$  and  $Q_M^{N_2}$  than the ligation alone or no treatment.

The above results indicate the existence of direct effect of ACTH which decreases brain edema and increases expiration of brain tissue.

This *in vivo* experiment, however, did not clarify whether the effect was a direct one of ACTH or just an enhancement of corticosteroid effect.

The second part was concerned with an *in vitro* experiment. An influence of ACTH on respiration and anaerobic glycolysis of brain cortex of normal mice was examined by Warburg's method. An addition of 1.0u/cc of ACTH resulted in a mild depression of respiration and enhancement of anaerobic glycolysis. No influence was observed in the other group.

The whole results indicate that ACTH injection results in an enhancement of corticosteroid effect on blood-brain-barrier, not by stimulation of adrenal cortex but by itself, although the direct effect of ACTH on the barrier is not completely neglected.

It seems correct to conclude that ACTH has a definitive effect on blood brain barrier and on the production of brain edema by way of an enhancement of corticosteroid effect.