

慢性脳局所アナフィラキシー家兎脳髓の解糖作用 ならびに組織呼吸に関する研究

第 3 編

慢性脳局所アナフィラキシー家兎脳髓の灌流 実験法による糖代謝に関する研究

(本研究は文部省科学研究費の補助による)

岡山大学医学部第1(陣内)外科教室(指導:陣内教授)

副 手 於 保 義 雄

〔昭和32年7月3日受稿〕

第1章 緒言ならびに文献

私はさきに第1編において *in vitro* の実験をおこない慢性脳局所アナフィラキシー家兎(以下、慢性脳局ア家兎と略記する)大脳皮質の *energy metabolism* を検索したところ、全般的に正常家兎群に比して解糖作用、組織呼吸ともに低下の傾向にあることを知った。ついで第2編においてこれら慢性脳局ア家兎大脳皮質の切片にグルタミン酸を作用せしめることによつて、これら *metabolism* は正常値に近くなることをみとめ、慢性脳局ア家兎ではグルタミン酸の不足を推定できるむねをのべた。

しかしながら *in vitro* の実験では、大脳皮質の切片を作成して実験に用いるのであるが、切片作成にあつては神経細胞はもちろんその突起をも截断され、その截断端から断えずいろいろの刺戟が与えられ切片全体が複雑な混乱状態におちいつていることは容易に想像できる。

脳髓の代謝で重要なのは *balance* のとれた代謝過程が円滑に進行することであり、この調節機構が脳髓ではとくに複雑かつ鋭敏に発達していることは周知の事実である。*in vitro* の実験ではこの調節機構が急速に破壊、変化されるのである。*in vitro* における脳髓の解

糖作用の特異点または欠点は、切片作成から実験値測定までの間にいろいろの酵素、補酵素群が人工操作のために破壊、減少、消失などの変化をこうむることである。したがつて今回はここに *in vivo* ともいふべき教室の井上¹⁾の新案せる断頭家兎保生脳髓灌流法を採用し、慢性脳局ア家兎脳髓の糖代謝の状況を明らかにせんとして本実験を企てた。

この *in vivo* の実験では比較的人工操作が少く、より生体に近い状態であるから、自らその実験値も *in vitro* の場合と異つてくることは当然考えられることである。本法のごとき脳髓灌流法を用いて糖代謝を検した文献は少く、さきに教室の清水²⁾、宇都宮³⁾、友沢⁴⁾らが急性脳局ア家兎或は痙攣家兎脳髓の灌流をおこなつたにすぎない。

糖代謝については Meyerhof⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾、Warburg⁹⁾によつて、筋肉の運動機能と含水炭素代謝との関係について明らかにされた。脳髓における糖代謝については、その状況が筋肉の場合と違ふらしいといういろいろの論議がなされたが、結局は筋肉において簡明にされた各階程が脳髓においても同様な過程が存在するという考えのもとに、諸方面から研究せられている。Meyerhof⁶⁾⁷⁾⁸⁾等により糖分解は磷酸解糖を主とするものであることが確認され、すなわち糖分解は *hexokinase* によ

る高エネルギー燐酸基の添加により始まり、hexose monophosphate, hexose diphosphate を経て焦性葡萄糖を生成するという解糖の各階程をとる。この際燐酸供与体の一部は再合成され、解糖によつて生成された焦性葡萄糖は呼吸機構に移され、Krebs cycle を経て、Cytochrom 系により H_2O と CO_2 に分解されるわけである。ただ脳髓では筋肉、その他の臓器におけるように Glycogen の燐化分解が主たる出発点となるのではなく、血糖より得られた葡萄糖は Glycogen を経ずして直ちに分解されるのである。

上述のごとく解糖作用とは糖から焦性葡萄糖または乳酸までを言い、焦性葡萄糖以下 Krebs cycle を経て $H_2O + CO_2$ となるのは呼吸作用といわれ、aerob の状態で細胞構造の正常の際にみられるものである。本灌流法は aerob であり、脳髓組織は生体におけるとほぼ同様の状態であるから解糖、呼吸作用を含めた aerob の糖質代謝の全貌をみるわけである。

第2章 実験方法

I. 実験動物

a) 正常家兎は前編において用いたと同様に 2 kg 前後の白色成熟家兎を使用した。

b) 慢性脳局ア家兎は牛脳灰白質フォスファテッド加牛血清感作群（以下、牛脳灰フォ群と略記する）ならびに α 型連鎖状球菌感作群（以下、 α 連鎖群と略記する）ともに前編にのべたと同様の方法で作成した。最終効果注射後無操作のまま 4～6 月間放置してから実験に使用したことなども全く前編におけると同様である。

II. 実験装置

実験装置は、さきに教室の井上¹⁾ が発表した断頭家兎保生脳髓灌流法を用いた。この方法の詳細については原著にゆずるが、ここにその大略をのべると、まず家兎の股動脈から 30cc の血液をとり、脱線維素操作をなして後、リングル液で 3 倍に稀釈する。この稀釈液 60cc を灌流液として使用するのであるが、一

方家兎の外頸動脈を結紮し総頸動脈に小「カニューレ」を挿入連結し、ついで断頭して灌流装置に固定して灌流を開始する。以上の操作はいずれも迅速に、かつ器具は清潔に取扱ひ、また脳血管内に空気が入らないように厳重に注意をして行うことは勿論である。灌流時の注入速度は 1 分間に約 20 cc で、脳髓内を灌流して頸静脈等より出る灌流液を開放性に漏斗に集め、これを人工肺臓に送り、ここで酸素を飽和せしめて保温槽内の受液瓶に溜める。これを吸引して二方活栓を通じ、注入器の圧力で再び脳髓を灌流するのである。

私は上記の灌流液に葡萄糖は 60 mg、焦性葡萄糖は 6 mg を附加して 30 分間灌流した。そして灌流前後の灌流液について糖量ならびに焦性葡萄糖量を測定した。

III. 糖定量法

糖定量は藤井¹⁰⁾ の記載する Hagedorn-Jensen 法によつて定量した。その方法を略述すると、まず除蛋白を厳重におこない、 $n/200$ 「フェリシアンカリ」を正確に 2 cc 添加し、沸騰する水槽中で 15 分間加熱する。ついで冷水中に放冷、「ヨードカリ」加-硫酸亜鉛溶液 3 cc、稀醋酸液 2 cc を順次に添加しヨードを析出させ、このヨードを $n/200$ チオ硫酸ソーダ液をもつて滴定する。チオ硫酸ソーダの総消費を糖量に換算し、最後に盲験を出し、前者より後者を減じこれを糖量とした。

IV. 焦性葡萄糖定量法

W. W. Umbreit¹¹⁾ 等が記載した「検圧法と組織代謝」の方法にならつて定量した。ここにその方法を略記すれば次のごとくである。

A. 試薬

- 1) 10 g/dl トリクロール醋酸
- 2) 0.1g/dl 2 規定の塩酸加 2-4 ジニトロフェニールヒドラチン
- 3) キシロール
- 4) 10 g/dl 炭酸ソーダ
- 5) 4 規定の苛性ソーダ

B. 実施法

被検液 1 量に対し 4 倍量のトリクロール醋酸を加え、これを濾過し、濾液 3 cc に 1 cc の

2-4 チニトロフェニールヒドラチンを加え室温に10分間放置する。さらに8ccのキシロールを加えて通気混和，その下層を捨て，キシロール層を水3ccで2回洗い，水を除き，10%炭酸ソーダ6ccを加え，通気してよく混和する。炭酸ソーダ層5ccを小コルペンにとり，つぎに4規定の苛性ソーダ2ccを加えて混和し，10分以内に比色する。比色には藤田¹²⁾の記載にならい，ブルフリッヒ光度計を使用した。FilterはS50，Küvettは10mmを用いた。あらかじめ測定した検量曲線によつて含有量を決定した。

第3章 実験成績

I. 葡萄糖附加実験

1) 葡萄糖60mgを附加して灌流した後の葡萄糖消費量は，次に示すごとくである。

a) 正常家兎

8例についておこなつた実験成績は，第1表に示すごとくである。すなわちこの減少率

第1表 葡萄糖附加実験 mg/dl
(正常家兎群)

家兎番号	体重 kg	性	実験月	灌流前	灌流後	差	減少率 %
No. 27	2.9	♀	IX	128	94	34	27
No. 28	2.6	♀	IX	145	95	50	35
No. 29	3.0	♂	IX	130	80	50	39
No. 30	2.6	♀	IX	140	85	55	39
No. 31	2.8	♀	IX	130	82	58	37
No. 32	2.8	♂	IX	135	80	55	42
No. 33	2.6	♀	IX	128	73	55	43
No. 34	2.9	♂	IX	130	80	50	39
平均							37.6

についてみると最高43%，最低27%，平均37.6%である。

b) 慢性脳局ア家兎

(i) 牛脳灰フォ群：6例についての実験成績は第2表に示したごとく，最高34.6%，最低18.5%，平均22.9%の減少率であり，正常家兎群よりもかなり抑制されていることを知る。

(ii) α連菌群：6例についての実験成績は

第2表 葡萄糖附加実験 mg/dl
(牛脳灰フォ群)

家兎番号	体重 kg	性	実験月	灌流前	灌流後	差	減少率 %
No. 57	3.1	♀	IX	124	81	43	34.6
No. 58	3.6	♂	IX	130	103	27	20.7
No. 59	3.3	♂	IX	112	83	24	21.4
No. 60	3.0	♀	IX	124	101	23	18.5
No. 61	2.9	♂	IX	129	101	28	21.7
No. 62	3.2	♂	IX	127	101	26	20.5
平均							22.9

第3表 葡萄糖附加実験 mg/dl
(α型連菌群)

家兎番号	体重 kg	性	実験月	灌流前	灌流後	差	減少率 %
No. 63	3.0	♀	IX	169	128	41	24
No. 64	3.6	♀	IX	166	131	35	21
No. 65	3.2	♂	IX	110	72	38	35
No. 66	3.5	♀	IX	146	116	30	21
No. 67	3.0	♀	IX	103	74	29	28
No. 68	2.9	♂	IX	105	78	27	26
平均							26

第3表に示すごとくで最高35%，最低21%，平均26%の減少率である。

以上の実験成績を比較すると，慢性脳局ア家兎群はいずれも，正常家兎群よりも糖消費が抑制されていることがみとめられる。ことに牛脳灰フォ感作群においてその傾向が著明である。

2) 焦性葡萄糖量

葡萄糖附加灌流後の焦性葡萄糖量を測定した。その成績は下記のごとくである。

a) 正常家兎

8例について測定した実験成績は第4表のごとくで，その増加量は最高3.8mg/dl，最低1.5mg/dl，平均2.46mg/dlである。

b) 慢性脳局ア家兎

(i) 牛脳灰フォ群：6例について検した成績は第5表に示すごとくである。すなわち最高1.3mg/dl，最低0.7mg/dl，平均0.98mg/dlの増加である。

(ii) α連菌群：6例の実験成績は第6表に示すごとくで，その増加量は最高1.3mg/dl，

第4表 葡萄糖附加灌流後の焦性葡萄糖
増加量mg/dl (正常家兎)

家兎番号	体重 kg	性	実験 月	灌流前	灌流後	増加量
No. 35	2.9	♀	IX	1.10	4.00	2.90
No. 36	2.6	♀	IX	1.10	4.90	3.80
No. 37	3.0	♂	IX	0.95	3.35	2.40
No. 38	2.6	♀	IX	0.80	3.20	2.40
No. 39	2.8	♀	IX	1.20	4.00	2.80
No. 40	2.8	♂	IX	0.95	2.40	1.50
No. 41	2.6	♀	IX	1.00	2.60	1.60
No. 42	2.9	♂	IX	0.95	3.30	2.35
平 均						2.46

第5表 葡萄糖附加灌流後の焦性葡萄糖
増加量mg/dl (牛脳灰フオ群)

家兎番号	体重 kg	性	実験 月	灌流前	灌流後	増加量
No. 69	3.1	♀	IX	1.20	2.20	1.00
No. 70	3.6	♂	IX	0.80	1.50	0.70
No. 71	3.3	♂	IX	0.80	1.60	0.80
No. 72	3.0	♀	IX	1.10	2.40	1.30
No. 73	2.9	♂	IX	0.70	1.90	1.20
No. 74	3.2	♂	IX	0.90	1.80	0.90
平 均						0.98

第6表 葡萄糖附加灌流後の焦性葡萄糖
増加量 mg/dl (α 型連菌群)

家兎番号	体重 kg	性	実験 月	灌流前	灌流後	増加量
No. 75	3.0	♀	IX	1.00	2.00	1.00
No. 76	3.6	♀	IX	1.10	2.20	1.10
No. 77	3.2	♂	IX	0.70	2.00	1.30
No. 78	3.5	♀	IX	1.10	2.00	0.90
No. 79	3.0	♀	IX	0.80	2.00	1.20
No. 80	2.9	♂	IX	0.90	1.90	1.00
平 均						1.08

最低 0.9 mg/dl, 平均 1.08 mg/dl であった。

上述のごとく葡萄糖附加灌流後の焦性葡萄糖増加量も正常家兎群に比し慢性脳局ア群は明かに低下の傾向がみとめられる。この場合、抗原別による差はあまりみとめられなかつた。

II. 焦性葡萄糖附加実験

焦性葡萄糖附加灌流後の焦性葡萄糖消費量

は、次に示すごとくである。

a) 正常家兎

正常家兎8例についての実験成績は第7表に示すごとくで、灌流後の減少率は最高38%、最低28%、平均33.3%であつた。

第7表 焦性葡萄糖附加実験 mg/dl
(正常家兎)

家兎番号	体重 kg	性	実験 月	灌流前	灌流後	差	減少率 %
No. 43	3.0	♀	X	7.3	4.5	2.8	38
No. 44	2.8	♀	X	7.0	4.5	2.5	36
No. 45	2.8	♀	X	6.8	4.7	2.1	31
No. 46	2.6	♂	X	6.9	4.8	2.1	30
No. 47	2.9	♀	X	7.2	5.2	2.0	28
No. 48	2.5	♀	X	7.1	4.4	2.7	38
No. 49	2.8	♂	X	6.9	4.6	2.3	33
No. 50	2.9	♂	X	7.3	4.9	2.4	33
平 均							33.3

b) 慢性脳局ア家兎

(i) 牛脳灰フオ群：6例についての実験成績は第8表に示すごとくであつた。すなわち最高26%、最低16%、平均23%の減少率であり、正常群よりもかなり抑制されていることを知ることができる。

第8表 焦性葡萄糖附加実験 mg/dl
(牛脳灰フオ感作群)

家兎番号	体重 kg	性	実験 月	灌流前	灌流後	差	減少率 %
No. 81	2.9	♀	X	7.0	5.2	1.8	26
No. 82	3.1	♀	X	7.4	5.8	1.6	22
No. 83	2.9	♂	X	6.8	5.7	1.1	16
No. 84	2.9	♀	X	7.1	5.5	1.6	23
No. 85	3.3	♀	X	7.3	5.0	1.8	25
No. 86	3.0	♂	X	6.7	5.0	1.7	25
平 均							23

(ii) α 連菌群：6例の実験成績は第9表に示すごとく、最高30%、最低21%、平均27%の減少率で、これも正常群に比し若干消費抑制の傾向がみられる。

第9表 焦性葡萄糖附加実験 mg/dl
(α 型連鎖菌群)

家兎番号	体重 kg	性	実験 月	灌流前	灌流後	差	減少率 %
No. 87	3.0	♂	X	7.1	5.6	1.5	21
No. 88	2.9	♂	X	7.0	5.0	2.0	29
No. 89	3.3	♀	X	6.8	4.8	2.0	29
No. 90	2.9	♀	X	7.3	5.4	1.9	26
No. 91	2.8	♀	X	6.7	5.0	1.7	28
No. 92	3.1	♀	X	7.4	5.2	2.2	30
平 均							27

第4章 総括ならびに考按

この断頭家兎保生脳髓灌流法，すなわち本実験は aerob であり，脳髓組織は生体におけるほぼ同じような状態であるから，解糖，呼吸を含めた aerob の糖代謝の全貌をみるわけになる。

上述のごとく，まず葡萄糖附加実験の場合は，正常家兎群に比し慢性脳局ア群ではいずれも糖消費率がかなり減少している。

このことは，糖分解機構において糖の分解そのものが抑制されているものか，あるいはまた，分解の反面，糖への合成が盛んにおこなわれているためかのいずれかである。したがってこれを知るために糖分解の中核的地位をしめる焦性葡萄糖の量を定量したところ，正常家兎と同じように慢性脳局ア群においても糖附加灌流中に増加はしているが，正常群に比しその増加量が少い。

さらに焦性葡萄糖ソーダ附加の場合は，葡萄糖附加の場合と同じように，慢性脳局ア家兎群においては焦性葡萄糖の消費も少くなっている。

以上の事実から，慢性脳局ア家兎脳髓においては糖の消費，すなわち糖分解が少いことは焦性葡萄糖からの合成が盛んなためではなく，糖分解そのものが抑制されているためであることがわかる。

私は前編において，この同じ慢性脳局ア家兎大脳皮質の切片について，Warburg 検圧法を用いた in vitro の実験により解糖作用，組

織呼吸ともに抑制の傾向にあることをのべ，さらに同じ皮質切片にグルタミン酸ソーダを附加してやることにより，正常群の値に近くなることを知りえた。またこれは慢性脳局ア家兎脳髓においてはグルタミン酸が不足しているためであろうとのべた。今回もまた灌流法によつて糖代謝の状況を検したところ，上述のように慢性脳局ア家兎脳髓では全般的に糖代謝が抑制されていることを知つた。

前編においてものべたように，慢性脳局ア家兎脳髓の組織アレルギーの病変は，さきに教室の坂井¹³⁾，藤村¹⁴⁾らが詳細にわたつて報告したように神経細胞，グリア，髄鞘の著明な変化，さらに血管系における毛細血管壁の肥厚，血管周囲淋巴腔の拡大などがみとめられている。このような高度の病変のある脳組織が正常な物質代謝を営むとは考えがたく，ことに本灌流実験のごときは脳血管系を通じての脳神経組織の代謝機能測定であるため，さらに何らかの代謝の異常を考えさせられるのである。

他の組織と異り，脳組織はいくつの特長をもつており，脳の血管は他の組織のそれに比し甚だ少く，かつ血管系はグリア線維で囲まれ，血管外膜との間に Virchow-Robin 腔が介在している。しかしこの腔は毛細血管までは達せず，したがって脳毛細血管は直接にグリア組織に囲まれているといわれ，沖中教授¹⁵⁾によれば，小動脈以上の大きな血管はその血管壁に相当の変化があつても強い狭窄がないかぎり脳実質への影響は少いが，毛細血管ではその血管壁を通じて血液と脳実質が物質交換をする部位であるから病変はたとえ管腔の閉塞がなくても脳実質に与える影響は大きいとのべている。

さらに脳髓は機能，構造において特長をもっている。すなわち他の組織に比較して酸素消費量は非常に多く，一方活動時と休止時の酸素消費量の差は筋肉等に比して僅かであり，極端に均一な代謝をおこなつており，静止の場合も活動時の代謝とみなしうる程度であるといわれている。また脳髓は多量の葡萄糖を

燃焼し、しかもこれは血糖からうけているといわれている。急激なる血糖値の低下と、暫時の酸素欠乏がただちに神経機能に重篤なる障害を与えることは、インシュリンショック、窒息の時などの際にみられるところである。

脳関門については、いろいろ論議されているが(Bakay, Spatz, King, Himwich¹⁶⁾, 白木, 中¹⁷⁾), さらに沖中教授は、脳組織における Alkaliphosphatase が毛細血管壁に強い活性を与えることは血液脳関門の一つの組織化学的表現であるとのべている。

脳髓のエネルギー源は主として血液中の葡萄糖であり、脳組織のエネルギー代謝はグリア細胞を多く含む白質よりも、神経細胞に富む灰白質において盛んであり、その比は約 4:1 であるといわれている¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾。

前にものべたように、慢性脳局ア家兎脳髓の病理組織学的変化は陳旧性癲癇脳とかなり類似しており(坂井¹³⁾, 藤村¹⁴⁾), 脳毛細血管系, グリア, 髄鞘, 神経細胞などに重篤なる変化がみとめられている。すなわち神経細胞の脱落, 萎縮, 空胞変性, 融解性変化, グリア包括, Neuronophagie, 配列混乱, 巢状脱落など高度の病変を示し, グリアにおいては著明な gliose を, 血管系においては血管壁肥厚, 壁細胞増殖, 血管外膜淋巴腔拡大, 髄鞘においては稀薄化, 脱落などをみとめている。

かかる高度の組織学的変化をもつ慢性脳局

ア家兎脳髓においては、もはや正常のエネルギー代謝をいとなみうるとは考えられず、事実、私のおこなった実験結果は前述のように全編を通じて組織呼吸, 解糖作用ともに抑制の傾向を示していた。すなわち慢性脳局ア家兎脳髓のエネルギー代謝機能は全般的に低下の傾向にあるものと考えられる。

以上、私は組織学的に陳旧性癲癇脳と類似した慢性脳局ア家兎¹³⁾¹⁴⁾の組織呼吸, ならびに解糖作用を in vivo, in vitro の方面より検査し、全般的にこの機能低下の傾向にあることをみとめたのであるが、これは真性癲癇研究の一部を進歩せしめたものと信ずるものである。

第5章 結 論

1) 葡萄糖附加灌流実験において、慢性脳局ア家兎は正常家兎に比し、糖の消費が抑制されている。

2) 同じく葡萄糖附加の場合、慢性脳局ア家兎は正常家兎に比し、焦性葡萄糖の増加量も少ない。

3) 焦性葡萄糖附加実験において、慢性脳局ア家兎では正常家兎に比し抑制の傾向がみとめられる。

4) 慢性脳局ア家兎では全般的に糖代謝が抑制されている。

擧筆するにあたり終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わつた恩師陣内教授に深甚なる謝意を捧げる。

参 考 文 献

- 1) 井上・脳と神経, 3, 215, 昭26.
- 2) 清水: 岡山医学会雑誌, 65, 1169, 昭28.
- 3) 宇都宮・岡山医学会雑誌, 65, 1345, 昭28.
- 4) 友沢: 岡山医学会雑誌, 68, 935, 昭31.
- 5) Meyerhof: Pflüger's Arch. 188, 144, 1921.
- 6) Meyerhof: Arch. Biochem, 12, 405, 1947.
- 7) Meyerhof: Arch. Biochem, 13, 485, 1947.
- 8) Meyerhof: Arch. Biochem, 14, 71, 1947.
- 9) Warburg: Biochem. Zeitschr, 100, 185, 1947.
- 10) 藤井: 生化学実験法, 211, 昭19.
- 11) W. W. Umbreit: Manometric Techniques and Tissue Metabolism, 162, 1949.
- 12) 藤田: 東京医事新誌, 2934, 30, 昭10.
- 13) 坂井: 岡山医学会雑誌, 67, 403, 昭30.
- 14) 藤村: 岡山医学会雑誌, 67, 615, 昭30.
- 15) 沖中: 最新医学, 9, 1736, 昭29.
- 16) Himwich: 沖中: 最新医学, 9, 1736, 昭29.
- 17) 白木, 中: 神経化学, 昭29.
- 18) Kety: J. Clin. invest., 27, 476, 1948.
- 19) Kety: A. J. Psychiat, 104, 765, 1948.
- 20) 台: 精神々経学雑誌, 52, 204, 昭25.

**Experimental studies on the glycolysis and tissue respiration in
the brain of chronic cerebral local anaphylactic rabbits**

Part III.

**On the glycolysis of the brain of chronic cerebral local
anaphylactic rabbits in irrigation method**

By

Yoshio Obo

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

The glycolysis of the living brain of deacipated chronic cerebral local anaphylactic rabbits was investigated by irrigation method.

Glucose was added to the irrigating fluid and the consumption of glucose was measured. In the chronic cerebral local anaphylactic rabbits the glucose-consumption was markedly strained in comparison with that in normal group. The pyruvic acid increased in both anaphylactic and normal groups, but the anaphylactic group showed a less increase than the normal.

The addition of sodium pyruvate to the irrigating fluid caused less decrease of pyruvic acid in chronic cerebral anaphylactic rabbits than that in normal group

From the facts above mentioned it is considred, that glycolysis is strained in the brain of chronic erebral local anaphylactic rabbits.
