

「アレルギー」による実験的癲癇症（痙攣準備状態附與） に 関 す る 研 究

第 2 編

牛血清による脳局所過敏症家兎に於け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）

（本論文要旨は第7回脳神経外科研究会並に第464回岡山医学会通常例会に発表）

岡山大学医学部第一（陣内）外科教室（指導 陣内教授）

医学士 清水 準 也

〔昭和28年月7日10受稿〕

第1章 緒言並びに文献

私は第1編に於て非働化した牛血清を用いて作製した脳局所過敏症（＝脳局所アナフィラキシー、以下脳局「ア」と畧記）家兎はその脳に組織学的に変化の見られないような軽微なものでも、カルチアゾール痙攣閾値が下降していることを証明し、実験的潜在性脳局「ア」家兎は痙攣準備状態にあることを明らかにした。この潜在性脳局「ア」家兎脳について、脳内物質代謝を測定すれば、痙攣準備状態にある家兎の脳内変化が正常家兎のそれといかに異なるかを知ることができるわけである。そこで脳内エネルギー代謝の源泉であり、また痙攣或ひは脳髓機能と密接なる関係をもつといわれている含水炭素代謝に着目した。

脳髓の代謝に関する研究方法として、従来血液による方法、脳脊髄液による方法及び脳髓そのものによる方法とがある。しかし血液や脳脊髄液による体液病理学的方法は、脳髓外の諸条件による影響が避けられず、また脳組織そのものの生化学的研究でも、従来は組織片或いは組織粥を用いる *in vitro* の方法のみであつた。それでこれらの方法によつて得た成績がそのまま生体内の代謝にあてはまる

かどうか、その意義乃至価値は疑わしい。

先きに教室の井上¹⁾が発表した断頭家兎保生脳髓灌流法は、生体内に最も近い状態に於ける代謝を測定するのに最も適した方法であるので、これを用ひることにした。本法の如き脳髓灌流法を用ひて糖代謝を検した業績はこれまで見当らない。

糖代謝については Meyerhof²⁾ Warburg³⁾により筋肉の運動機能と含水炭素代謝との関係が明らかにせられてより、脳髓含水炭素代謝も同じ様な過程をへるものといふ考えのもとに諸家により諸方面から研究せられている。

先ず Holmes and Holmes⁴⁾は家兎の脳髓に於て乳酸を証明し、インシュリン注射により還元物質は減少しないとのべた。Winterstein⁵⁾ Jungmann⁶⁾は保生剔出脊髄に於て、塩類溶液中では乳酸を溶出するといひ、この液に葡萄糖を附加することにより、乳酸生成は酸素の中でも、窒素の中でも、非常に増加することを見、要するに中枢神経が激しい解糖作用を行ふこと、特に葡萄糖を附加することにより、解糖作用ははなはだしく促進されるといつている。高橋⁷⁾ 内田⁸⁾は大脳に於ける遊離糖の実験をなし、還元値をもつて、糖とみなして定量している。円山⁹⁾ 10)は家兎脳髓に於て死直后と20分後の遊離糖を定量比較して、死後

乳酸増加を説明しようとした。また Peters¹¹⁾ は焦性葡萄糖が脳髓の代謝に関係あることを明らかにしている。

脳髓の糖原については Barfurth¹²⁾ Erhard¹³⁾ は組織学的に糖原を証明し、Thudichum¹⁴⁾ は逆に化学的に糖原の存在を否定した。1929年中教授^{15) 16) 17) 18)} は組織学的糖原顆粒と生化学的糖原顆粒とは同一であることを報告し、更に糖原の新陳代謝は大脳皮質に於て主として行はれていると発表した。Schörndorff¹⁹⁾ は犬脳に於ける糖原量を報告している。Mac Ginty²⁰⁾ Jungmann-Kimmelstiel²¹⁾ 等は家兎に於ける糖原正常値を検し、脳を放置することにより減少し、同時に無機燐酸の増加するのを認めている。山田²²⁾ は脳糖原量並に葡萄糖量について従前より高い値を報告している。Elliot^{23) 24)} は治療の目的のために取られた焦点性癲癇脳組織の好氣的、嫌氣的糖分解は、正常脳組織のそれとは明らかなる差異がないと云っている。

以上先人により種々なる実験がなされているのであるが、私は灌流法といふ新しい方法で *in vivo* に近い状態における脳局「ア」家兎脳の糖代謝を知らうとして本研究を企てた次第である。

第2章 実験方法

1) 潜在性脳局「ア」家兎生成法

a) 牛血清を抗原とした場合

第1編に述べた如く1回静脈感作後9~10日目に緒方氏結合帯量を測定し、感作注射3週間目に第1回の再注射を頸動脈に行い、それ以後10日目に左右頸動脈に交互に5回効果注射をなし、終了後10日目に実験に用いた。

b) 燐脂質加牛血清を抗原とした場合

感作注射として、家兎耳静脈に Pro kg 2cc の新鮮牛脳灰白質燐脂質加牛血清を2回、2日間連続して注入し、効果注射は2週間間隔に5回、新鮮牛脳灰白質燐脂質加牛血清を耳静脈に注射し、終了後10日目に実験に用いた。

2) 断頭家兎保生脳髓灌流法

さきに井上が発表した断頭家兎保生脳髓灌

流装置を用い、灌流液(リンゲル氏液3倍稀釈血液)60ccに、葡萄糖は60mg、焦性葡萄糖ソーダは6mgを加えて、30分間灌流し、灌流前後の灌流液につき、葡萄糖量及び焦性葡萄糖量を測定した。

3) 糖原量測定法

大脳皮質切除后、山田教授²²⁾ 志波²⁵⁾ の方法にならい、可及的迅速に、大脳皮質400疋を粥状になし Pflüger の方法にて、正常家兎と脳アレルギー家兎との糖原量を測定した。

こゝに Pflüger の微量定量法を略述すると

i) 試薬

- 1) 35% 苛性カリ
- 2) 66%, 85%, 96% アルコール
- 3) 25% 塩酸
- 4) 稀醋酸液, エーテル

ii) 実施法

遠心沈澱管に加熱した35%苛性カリ1c.c.を入れ、この中に可検物を入れ、煮沸水浴中に2時間熱し、2c.c.の水を加へ、次に96%アルコール8c.c.加えて、グリコーゲンを沈澱させる。一夜放置し強く遠心沈澱し、1回づつ5c.c.の66%, 85%, 96%, アルコールにて洗い、最後にエーテルで洗ふ。上清液を取り、エーテルを蒸発させ、次に2c.c.の水に加熱して溶かし、稀醋酸2滴を加へ弱酸性とす。小石綿濾過器により濾過し、濾過器を2回2c.c.の熱湯で洗い、沈澱管にとる。1/10容の25%塩酸を加へ、3時間ほのほを小さくして加水分解する。冷却后中和して弱酸性にする。これを下記のハイドン氏法にて定量する。

4) 糖定量法

藤井²⁶⁾ の記載に基いて Hagedorn 氏法により定量した。以下略述すると、即ち除蛋白を充分嚴重に行い、1/200規定のフェリシアン加カリ液を正確に2c.c.添加し、沸騰する水浴中に15分間加熱し次に冷水中に放冷する。次でヨード加里加硫酸亜鉛溶液3c.c., 稀醋酸液2c.c.を順次に添加し、析出したヨードを1/200規定のチオ硫酸ソーダ液を以て滴定する。

チオ硫酸ソーダの総消費量を糖量に換算し最後に盲験を出し、これを糖量に換算し、前者より後者を引き、これを糖量とした。

5) 焦性葡萄糖定量法

W. W. Umbreit²⁷⁾等が記載した「検圧法と組織代謝」の方法にならつた。ここにその方法を記載すれば

(1) 試薬

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

(2) 実施法

被検液 1 量に対し、4 量のトリクロール醋酸を加え、これを濾過し、この濾過液 3c.c. へ 1c.c. の 2・4, ディニトロフェニールヒドラチンを加え、室温に 10 分間放置、8c.c. のキシロールを加え、通気してよく混和する。その下層を捨て、キシロール層を水 3c.c. で 2 回洗い、水を除き、10% 炭酸ソーダ 6c.c. を加え、

通気してよく混和し、炭酸ソーダ層 5c.c. を別のコルベンにとる。次に 4 規定の苛性ソーダを 2c.c. 加へ混和して、10 分以内に比色する。比色には藤田²⁸⁾の記載にならい、プルフリッヒ光度計を使用し、実験使用した濾光板 (Filter) は S. 50, 液槽 (Kuvett) は 10m.m. である。あらかじめ測定した検量曲線により含有量を決定した。

第 3 章 実験成績

〔I〕 葡萄糖附加実験

1) 葡萄糖消費量

葡萄糖附加実験に於て、葡萄糖消費量は第 1 表に示す如く、正常家兎に於ては、灌流前の量に対する灌流中の減少量、即ち減少率は平均 41% であるが、脳局「ア」家兎脳に於ては、牛血清を抗原としたものでは、平均 20%、磷脂質加牛血清を用いた家兎に於ては平均 22% を示している。この成績より明らかに過敏症家兎脳に於ては、糖消費が減少していることがわかる。

第 1 表

| 葡萄糖附加実験 mg/dl | | | | | | | | | |
|---------------|-----------|--------|-----|--------|---------------------------------|-----------|-----|-----|-----|
| | 家番号 兎号 | 灌流前 | 灌流后 | 減少率 | | 家番号 兎号 | 灌流前 | 灌流后 | 減少率 |
| | | | | | | | | | |
| No. 2 | 145 | 84 | 43% | No. 12 | 102 | 79 | 23% | | |
| No. 3 | 142 | 85 | 41% | No. 14 | 193 | 155 | 20% | | |
| No. 4 | 145 | 94 | 39% | No. 17 | 110 | 89 | 20% | | |
| No. 5 | 128 | 82 | 38% | No. 18 | 156 | 128 | 18% | | |
| No. 6 | 143 | 94 | 35% | No. 19 | 103 | 86 | 17% | | |
| | | 平均 41% | | | | 平均 20% | | | |
| | | | | | 家 脂 質 十 牛 血 清 | No. 22 | 135 | 99 | 27% |
| | | | | | | No. 23 | 110 | 82 | 27% |
| | | | | | | No. 25 | 143 | 120 | 17% |
| | | | | | | No. 26 | 168 | 137 | 19% |
| | | | | | | 平均 22% | | | |

2) 焦性葡萄糖量

第2表の如く、脳局「ア」家兎、正常家兎何れの場合も灌流后には焦性葡萄糖の増加が見られるが、正常家兎に於ける増加量は最大値 3.9mg/dl 最小値 1.8mg/dl 平均値 2.58

mg/dl に較べ、脳局「ア」家兎では最大値 1.55mg/dl、最小値 0.1mg/dl、平均値 0.975 mg/dl で、脳局「ア」家兎では焦性葡萄糖の増加量が著しく減少している。

第 2 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 番 号 | 灌 流 前 | 灌 流 后 | 増 加 量 | 脳 局 「 ア 」 家 兎 | 家 番 号 | 灌 流 前 | 灌 流 后 | 増 加 量 |
| | No. 30 | 1.20 | 4.20 | 3.00 | | No. 40 | 1.10 | 1.40 | 0.30 |
| No. 31 | 1.10 | 5.00 | 3.90 | No. 43 | 0.60 | 1.60 | 1.00 | | |
| No. 32 | 0.90 | 3.20 | 2.30 | No. 44 | 0.60 | 0.70 | 0.10 | | |
| No. 33 | 0.90 | 2.80 | 1.90 | No. 45 | 0.45 | 1.90 | 1.45 | | |
| No. 34 | 0.60 | 2.40 | 1.80 | No. 48 | 0.45 | 2.00 | 1.55 | | |
| | | | | No. 49 | 0.35 | 1.80 | 1.45 | | |
| 平均 | | | | 2.58 | 平均 | | | | 0.975 |

〔Ⅰ〕 焦性葡萄糖附加実験

(1) 焦性葡萄糖消費量

焦性葡萄糖附加実験に於て、焦性葡萄糖の消費量は、第3表に示す如く正常家兎では灌流前の量に対する灌流中の減少量、即ち減少

率は平均32%であるに対して、脳局「ア」家兎に於ては、平均17%の減少を認めた。即ち焦性葡萄糖を附加した場合も、やはり潜在性脳局「ア」家兎に於て、その消費量が減少していることを知る。

第 3 表

| 焦性葡萄糖ソーダ附加実験 mg/dl | | | | | | | | | |
|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 正 常 家 兎 | 家 番 号 | 灌 流 前 | 灌 流 后 | 減 少 率 | 脳 局 「 ア 」 家 兎 | 家 番 号 | 灌 流 前 | 灌 流 后 | 減 少 率 |
| | No. 50 | 7.1 | 4.4 | 38% | | No. 60 | 6.8 | 5.5 | 20% |
| No. 51 | 7.3 | 4.9 | 33% | No. 61 | 7.5 | 6.1 | 19% | | |
| No. 52 | 7.1 | 4.8 | 33% | No. 63 | 7.0 | 5.8 | 18% | | |
| No. 53 | 6.9 | 4.7 | 32% | No. 64 | 7.4 | 6.2 | 17% | | |
| No. 54 | 6.9 | 4.8 | 31% | No. 65 | 7.1 | 5.9 | 17% | | |
| No. 55 | 7.4 | 5.3 | 28% | No. 66 | 6.7 | 5.2 | 14% | | |
| 平均 | | | | 32% | 平均 | | | | 17% |

〔Ⅱ〕 大脳皮質の糖原量

第4表に示す如く、正常家兎と脳局「ア」家兎とを比較するに、正常家兎では平均 200

mg%.

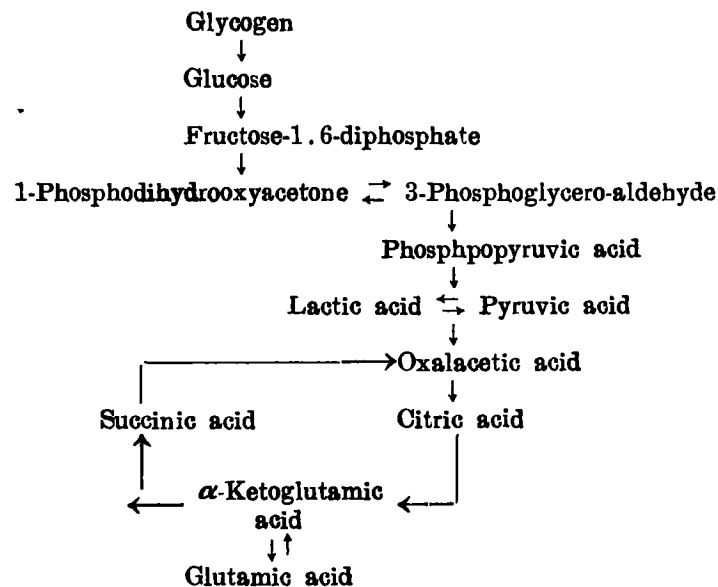
脳局「ア」家兎では平均 169mg% で、後者に於て減少を認めている。

第 4 表

| 大 腦 に 於 ける 糖 原 量 mg/% | | | |
|-----------------------|---------|--------|---------|
| 家兎番号 | 正 常 家 兎 | 家兎番号 | 脳局「ア」家兎 |
| No. 70 | 220 | No. 79 | 120 |
| No. 71 | 200 | No. 80 | 185 |
| No. 73 | 185 | No. 82 | 173 |
| No. 75 | 203 | No. 85 | 180 |
| No. 76 | 205 | No. 87 | 185 |
| No. 77 | 185 | No. 88 | 165 |
| No. 78 | 205 | No. 89 | 175 |
| | 平均値 200 | | 平均値 169 |

第 4 章 総括並びに考按

筋肉に於ける含水炭素代謝については Meyerhof, Lohman 等により明らかにせられ、今日では次のような分解過程をへると考へられている。即ち



このような解糖過程を脳髓に於ても取るものと考えられて多くの諸家により、種々なる実験が行はれて来た。この場合、解糖作用とは、糖、糖原から焦性葡萄糖、乳酸迄を云ひ、焦性葡萄糖以下 Krebs の Cycle を経て、 $H_2O + CO_2$ となるのは呼吸作用と云はれ、aerob の状態で、細胞構造の正常の際見られるものである。

私の行つた灌流実験は aerob であり、脳組織は生体に於けると略々同様の状態であるから、解糖、呼吸作用を含めた aerob の糖代謝の全貌をみるわけになる。

まづ葡萄糖附加実験に於て、潜在性脳局「ア」家兎に於ては、正常家兎に比し糖消費が半減している。これは糖分解過程に於て、糖の分解そのものが抑制されているためか、或ひは分解の反面、合成が盛んに行はれているためかの何れかである。この際分解の中枢

的地位をしめる焦性葡萄糖量を定量した所、正常家兎と同様潜在性脳局「ア」家兎に於ても、糖附加灌流中に増加はしているが、正常家兎に比してその増加量が甚だ少いのである。

更に焦性葡萄糖ソーダ附加実験では、糖の場合と同様、脳局「ア」家兎に於ては焦性葡萄糖の消費も少いのである。

以上の事実から潜在性脳局「ア」家兎の際に糖の消費即ち糖分解が少いのは、焦性葡萄糖からの合成が盛んなためではなく、糖分解そのものが少いためであり、また焦性葡萄糖の消費も亦少いことがわかる。この様に脳局「ア」家兎では全般に糖代謝の著明な抑制がみられるのであるが、教室の兼松が癲癇患者竝に脳局「ア」家兎の脳皮質切片について、Warburg 氏検圧法を用いて解糖作用を検した in vitro の実験においては、何れの場合も正常に比して、僅かに抑制の傾向は認めるけれ

ども、私の灌流実験ほどの大した差を認め得なかつたのである。Elliot and Penfield^{23) 24)}も同様の実験で、癲癇脳と正常脳との間に差がないといっている。しかるに、灌流実験ではこのように著明の差があるのは何故であろうか、それは組織アレルギーの病変は主として血管系におこる事実から或は鏡検では見出しえないような微細な毛細血管の閉塞や狭窄のために、流血量が減少してこのような結果が出たものでないかとも考えられないことはない。

しかしながら通常のヘマトキシリン、エオジン染色標本を鏡検したところでは少くとも変化を認めないし、しかも兎に角糖代謝が抑制されているのである。

なお癲癇発作と焦性葡萄糖との関係については、痙攣発作直前に血中焦性葡萄糖濃度が減少するという実川²⁹⁾の文献がある。

次で脳糖原は Holmes a. Holmes⁴⁾によれば、脳の含水炭素には直接関係なく、脳はそれ自身に必要な含水炭素を直接血糖に仰ぐといわれているが、一方脳糖原は何等かの形で糖代謝に関与しているものと考へられる。中教授³⁰⁾は脳糖原につき2種類あげており、一つは反応性のものと一つは非反応性のものであると云ひ、内田⁸⁾ Jadassohn und Streit³¹⁾ 小堀³²⁾等は種々の薬物により糖原量は減少したり、増量したりすると云っている。私の成績によると正常家兎に比して、潜在性脳局「ア」家兎に於ては軽度に減少を認めている。これが果して有意の差であるか否かは疑問であるが、この糖原量の減少と、潜在性脳局「ア」家兎において灌流法による糖分解が抑

制されていることを考え合はせると、興味あるものとする。

以上痙攣準備状態にある潜在性脳局「ア」家兎では、糖代謝が全般に抑制されている成績をえた。但し脳髓灌流による糖代謝に関する実験は従来全くその例を見ず、*in vitro* 実験とは、種々の点において条件が異つており、両者の成績を比較することは無理でないかと思はれる。しかしながら以上述べた潜在性脳局「ア」家兎の糖代謝の成績が痙攣準備状態乃至アレルギー性病変と、どの様な因果関係をもつかは判らないにせよ、この様な成績を得たことは事実であつて、何れにしても癲癇の本態究明に一つの進歩をもたらしたものと考える次第である。

第5章 結 論

- 1) 葡萄糖附加実験に於て、潜在性脳局「ア」家兎に於ては正常家兎に比し、糖の消費が著明に抑制されている。
- 2) 葡萄糖附加実験に於て、潜在性脳局「ア」家兎に於ては、正常家兎に比し、灌流後の焦性葡萄糖増加量が少い。
- 3) 焦性葡萄糖附加実験に於ても、潜在性脳局「ア」家兎では著明に抑制されている。
- 4) 皮質の糖原量は潜在性脳局「ア」家兎では正常に比しやや減少している。
- 5) 潜在性脳局「ア」家兎に於ては、全般的に糖代謝が抑制されている。

撰筆するに当り、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜ひし恩師陣内教授に謝意を捧げ、併せて衛生学緒方教授、生化学水原助教授、陣内外科井上講師の御援助に深甚の謝意を表す。

参 考 文 献

- 1) 井上：脳と神経 3；215, (1951).
- 2) Meyerhof：Pflüger's Arch. 188；114, (1921).
- 3) Warburg：Biochem. Zeitschr. 100；185, (1917).
- 4) Holmes and Holmes：19；492. (1925). 20；412, (1926).
- 5) Winterstein：Biochem. Journ. 159；351, (1925).
- 6) Jungwonn：Biochem. Zeitschr. 206；460, (1929).
- 7) 高橋：Biochem. Zeitschr. 159；484, (1925).
- 8) 内田：Biochem. Zeitschr. 167；9, (1925).
- 9) 円山：福岡医科大学雑誌 24；703, (1931).

- 10) 円山 : 福岡医科大学雑誌 24 ; 1382, (1931).
 - 11) Peters : Biochem. J. 26 ; 1872, (1932).
 - 12) Barfurth : Arch. mikrosk. Anat. 25 ; 259, (1885).
 - 13) Erhard : Centralbt. f. Biol. 31 ; 472, (1911).
 - 14) Tudichum ; Die Chem. Konst des Gehirns. des Mensch. u. Tiere. Tübingen. (1901).
 - 15) 中 : 福岡医科大学雑誌 22 ; 145. (1929).
 - 16) 中 : 福岡医科大学雑誌 23 ; 44, (1930).
 - 17) 中 : 福岡医科大学雑誌 23 ; 1522, (1930).
 - 18) 中 : 福岡医科大学雑誌 24 ; 1055, (1931).
 - 19) Schörndorff : Pflügers Arch. 99 ; 191, (1903).
 - 20) MacGinty : Amer. J. Physiol. 88 ; 312, (1929).
 - 21) Jungmann u. Kimmelstiel : Biochem. Zeitschr. 212 ; 359, (1929).
 - 22) 山田 : 九州医学専門雑誌 1 ; 225, (1942).
 - 23) K. A. C. Elliot : J. Neurophysiol. 11 ; 485, (1948).
 - 24) K. A. C. Elliot : J. Neurophysiol. 11 ; 473, (1948).
 - 25) 志波 : 医学研究 3 ; 4, 367, (1929).
 - 26) 藤井 : 生化学実験法 211. (1946).
 - 27) W. W. Umbreit : Manometric Techniques and Tissue Metabolism, 162 ; (1949).
 - 28) 藤田 : 東京医事新誌 2834 ; 30, (1935).
 - 29) 実川 : 癲癇の研究 81 ; (1952).
 - 30) 中 : 精神神経学雑誌 49 ; 6, 87, (1947).
 - 31) Jadasshon und Streit : Klin. Wochschr. 31 ; 4, (1952).
 - 32) 小堀 : Biochem. Zeitschr. 173 ; 166, (1926).
-