

頭部通電重積犬脳組織のアセチルコリン代謝

第1報 コリンエステラーゼについて

(特別掲載)

金沢大学医学部精神医学教室(主任 秋元教授)

古橋 武夫

(昭和33年4月2日受付)

(この論文の要旨は昭和31年4月第53回日本精神神経学会総会において発表した。)

Study on Acetylcholine Metabolism in the Brain Tissue of a Dog
Influenced by the Repeated Electrically Induced Convulsion
The 1st Report Cholinesterase Activity

TAKEO FURUHASHI

Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Kanazawa University

(Director : Prof. H. Akimoto)

ABSTRACT

This is a measurement of the Cholinesterase Activity to clarify the influences of the repeated electrical convulsions to the metabolism in the cerebral tissue. The electrical convulsions were applied on an adult dog (more than a twelvemonth old), and the ChE Activity was measured in six positions: the cerebral cortex, the white matter, the caudate nucleus, the thalamus, the cerebellar cortex, and the spinal cord, and at three stages: the 1st stage of E. S. D. (excited condition), the 2nd stage of E. S. D. (dementia condition), and the convalescent stage.

The following results were obtained:

- (1) The ChE Activity is the greatest in the caudate nucleus, and in the other positions the order of the greatness is: the cerebellar cortex, the thalamus, cerebral cortex, spinal cord, the white matter. This order does not change in all the cases of the normal dog, throughout the 1st stage and the 2nd stage.
- (2) At the 1st stage (excitation) the ChE Activity in the cerebral cortex becomes twice as large as in normalcy. In the other positions, however, it is impossible to recognise any significant difference of the activity from that in normalcy.
- (3) At the 2nd stage (dementia) the ChE Activity in the cerebral cortex becomes less than at the 1st stage, yet more than normalcy. As at the 1st stage, there is no significant difference in the other positions.
- (4) At the convalescent stage the ChE Activity resumes normalcy.

I. 緒 言

中枢神経系の機能を探求する上に生化学的方法が重要な役割を果すべきことは多言を要しない。しかし、

この分野の研究は近年に至つてようやく活潑となつたもので、未開拓のところがおおく残されている。

わが教室神経化学研究室ではこれまで電撃重積によつて惹起される脳物質代謝の変化をいろいろな方面から追求してきたり、即ち永森²⁾の糖質代謝、島田³⁾の核酸代謝、永森⁴⁾の電解質変動に関する検索がこれである。頭部通電を重積すると一過性、可逆性の大脳低下が発来する(人の電撃痴呆 E. S. D.)⁵⁾。これと相同の状態は動物(犬、モルモット)でも起すことができ、永森、島田は電撃重積犬の脳組織について検索を行つた。

私は更にこの問題を追求するために電撃重積犬について、糖質代謝、核酸代謝と密接な連関を有するアセチルコリン(Acetylcholine, 以下 Ach と略す)代謝をとりあげた。

周知の如く 1926 年、Loewi の迷走神経索⁶⁾、

Vagusstoff の発見以来、Dale⁸⁾、Feldberg⁹⁾、Nachmansohn¹⁰⁾ 等によつて提唱された神経興奮の化学伝導説は今日なお論議的であり、それ故同説の中心をなす Ach—コリンエステラーゼ(Cholinesterase, 以下 ChE と略す)系の検索は甚だ活潑をきわめている。

生体内における Ach 代謝は Ach, ChE 及びコリンアセチラーゼ(Cholinacetylase, 以下 ChA と略す)等による Ach の合成及び分解の問題だけに限局されるものではなく当然該組織の機能と関連して考察されなければならない。かかる観点に立脚した Ach 代謝の研究はなお甚だ不充分である。私が電撃重積犬脳組織を検索した理由もここにある。本報告では ChE 活性値の検索結果を述べる。

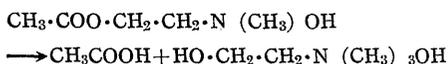
II. 研究 方 法

生後 1 年以上の成犬を撰び、これに 50 Volt, 5 秒間の頭部通電を 1 日 5 回繰返す重積法を施行した。電撃重積を繰返し施行すると大脳機能低下がつぎの如く要約される経過を以つて発現してくる。

即ち若干の個体差はあるが、電撃開始後 8~10 日頃、痙攣回数 40~50 回目位から著明な興奮状態に入る。これを電撃重積症状群第 1 期興奮期と称する。更に電撃重積を継続すると茫乎として躊躇し、目前の食餌も摂らないようになる。この時期は大体電撃開始後 25 日電撃日数 100 回後にみられる。これを電撃重積症状群と称す。電撃を中止して放置すると実験犬は次第に回復して活潑となり、平均 2~4 回週間で正常状態に復する。電撃痙攣の直接影響をさけるため電撃施行後少なくとも 24 時間を経過した後、頸動脈切断により出血死せしめ脳を取出した。測定は直後乃至 1~2 日氷室内に保存した組織について行つた。

ChE 活性値は Ammon 法¹¹⁾に倣い、Warburg 検圧計を用いて測定した。

ChE は次の反応式、即ち



によつて Ach を醋酸とコリンに分解する。この反応により遊離された醋酸は Medium の中に加えてある重曹と反応して CO₂ を発生するからこれを検圧計により測定する。

測定した脳の領域は、大脳皮質、大脳半球白質、尾

状核、視床、小脳皮質、脊髄(頸髄)である。これらの領域から切り出した組織片から次の組成のリンゲル液で homogenate をつくり、検圧計の読みを容易ならしめるためにそれぞれ適当に稀釈し、その 2cc をヴェッセルの主室に入れて後述する基質と混和してその全容積を 2.2cc とした。リンゲル液は実験の都度調整した。その組成は次の如くてある。

リンゲル液の組成

9.0g/l	NaCl	溶液	100cc
11.5 "	KCl	"	2 "
12.2 "	CaCl ₂	"	2 "
13.0 "	NaHCO ₃	"	20 "
(pH 7.4)			

基質溶液は塩化アセチルコリンを 2.5% (0.16M) の割合にリンゲルに溶解したものをを用い、その 0.2cc をヴェッセルの測室に入れた。測定にあつては 5% CO₂, 95% N₂ の混合ガスを作製し、これをガス腔に充填し、37.5°C で予備振盪を行うこと 10 分の後、主室の被検液に基質を混和し、混合後 5 分で CO₂ 発生量の測定を開始、10 分、20 分、30 分まで測定した。

又 homogenate についてはその 0.5cc について乾燥重量を測定し、乾燥重量 1mg につき 60 分間に発生する CO₂ 量即ち CO₂ cmm/乾燥重量 (d. w) mg/60 分で ChE の活性値を現わす。大脳半球白質では稀釈倍数が小さく、そのため CO₂ 以外のガス発生の可能性が予想されたので、基質を除いた後同条件で測定したところ、ガスの発生はみられなかつた。

III. 研究成績

生後1カ年以上の成犬脳の種々なる領域の ChE 活性値を測定した結果は次のようである。

1. 正常対照群の成績
対照群の成績は第1表の如くである。

第1表 対照群脳各部位の chE 活性値

実験番号 部 位	1	2	3	4	5	6	7	8	平均
大 腦 皮 質	10.6*	12.7	13.0	9.0	11.4	11.1	10.6	12.1	11.3
大脳半球白質	2.6	2.9	2.1	4.1	2.1	3.2	4.0	4.2	3.2
尾 状 核	293.0	290.5	305.0	285.3	317.2	332.1	311.6	373.3	307.8
視 床	44.4	51.7		44.3	37.1	46.8		47.8	46.1
小 腦 皮 質	93.1	105.0	102.6	85.9	98.4	91.5	96.6	121.0	101.5
脊 髓	12.2	10.1	7.8	10.2	8.7	8.5	12.7	14.0	10.6

* Co_2 cmm/mg.d.w/60'

大脳皮質は 10.6~13.6cmm/mg. d.w/60' で平均 11.3cmm/mg. d.w/60', 大脳半球白質は 2.1~4.2cmm/mg. d.w/60' で平均 3.2cmm/mg. d.w/60', 尾状核は 285.3~373.3cmm/mg. d.w/60' で平均 307.8cmm/mg. d.w/60', 視床 37.1~51.8cmm/mg. d.w/60' で平均 41.6cmm/mg. d.w/60', 小脳皮質 85.9~121.0cmm/mg. d.w/60' で平均 101.5cmm/mg. d.w/60', 脊髄は 7.8~14.0cmm/mg. d.w/60' で平均 10.6cmm/mg. d.w/60' である。

大脳皮質, 大脳半球白質, 尾状核, 視床, 小脳皮質, 脊髄(頸髄)の6領域を通じて, 尾状核の計測値が最大である。最小値は大脳半球白質である。平均値の順位は 1. 尾状核, 2. 小脳皮質, 3. 視床, 4. 大脳皮質, 5. 脊髄, 最後に大脳半球白質である。

2. 電撃重積第1期(昂奮期)の成績

この時期の ChE 活性値を5例の実験例についてみると大脳皮質 13.9~31.0cmm/mg. d.w/60' で, 平均 22.5cmm/mg. d.w/60', 大脳半球白質

第2表 頭部通電重積第1期昂奮期の chE 活性値

実験番号 部 位	電撃回数					平均
	1	2	3	4	5	
	30	46	56	83	88	
大 腦 皮 質	21.5*	17.0	13.9	30.2	31.0	22.5
大脳半球白質	3.0	4.7	3.1	3.1	3.2	3.5
尾 状 核	320.0	389.0	317.7	316.2	344.2	338.2
視 床	50.3	53.6	46.4	50.6	41.5	48.5
小 腦 皮 質	74.5	146.2	89.4	130.2	96.2	107.3
脊 髓	7.3	10.0	8.2	9.2	9.1	8.7

* Co_2 cmm/mg.d.w/60'

は 3.0~4.7cmm/mg. d.w/60' で平均 3.5cmm/mg. d.w/60', 尾状核は 316.0~389.0cmm/mg. d.w/60' で平均 338.2cmm/mg. d.w/60', 視床は 41.5~53.6cmm/mg. d.w/60' で平均 48.5cmm/mg. d.w/60', 小脳皮質は 74.5~146.2cmm/mg. d.w/60' で平均 107.3cmm/mg. d.w/60' 脊髄は 7.3~10.0cmm/mg. d.w/60' で平均 8.7cmm/mg. d.w/60' である。

3. 頭部通電重積第2期(麻痺期)の成績

総電撃回数 130~145 を施行した後, 頭部通電重積第2期の状態を呈した4例の成績は第3表の如くである。

表にみるように, この時期の ChE 活性値は大脳皮質 16.3~19.7cmm/mg. d.w/60', 平均 17.7cmm/mg. d.w/60'; 大脳半球白質 2.4~3.5cmm/mg. d.w/60'

第 3 表 頭部通電重積第 2 期の chE 活性値

実験番号 電撃回数 部位	1	2	3	4	平均
	130	130	140	145	
大脳皮質	19.7*	18.4	16.3	16.4	17.7
大脳半球白質	2.4	3.5	2.8	8.2	3.0
尾状核	342.5	321.0	338.9	316.4	329.7
視床	50.3	45.2	35.6	42.6	43.6
小脳皮質	137.6	133.2	128.5	125.4	131.2
脊髄	9.3	11.5	11.4	10.7	10.7

* Co₂ cmm/mg.d.w/60'

60', 平均 3.0cmm/mg. d.w/60'; 尾状核 310.4~342.5cmm/mg. d.w/60', 平均 329.7cmm/mg. d.w/60'; 視床 35.6~50.3cmm/mg. d.w/60', 平均 43.6cmm/mg. d.w/60; 小脳皮質 125.4~137.6cmm/mg. d.w/60' 平均 131.2cmm/mg. d.w/60', 脊髄 9.3~11.5cmm/mg. d.w/60', 平均 10.7cmm/mg. d.w/60' であ

る。

正常対照群, 頭部通電重積第 1 期及び第 2 期の ChE 活性値を比較すると第 4 表の如くである。

表にみるように, ChE 活性値の値は, 対照群と同様頭部通電重積症候群でも尾状核>小脳皮質>視床>大脳皮質>脊髄>大脳半球白質の順位である。

第 4 表 頭部通電重積第 1 期及び第 2 期の chE 活性値

測定部位 検査種別	大脳皮質	大脳半球白質	尾状核	視床	小脳皮質	脊髄
対照群	11.3*	3.2	307.8	46.1	101.5	10.6
電撃重積第 1 期	22.5	3.5	338.2	48.5	107.3	8.7
増加率 %	100	8	9	5	6	— 18
電撃重積第 2 期	17.7	3.0	329.7	43.6	131.2	10.7
増加率 %	58	— 7	6	— 6	30	0

* Co₂ cmm/mg.d.w/60'

測定した脳のいろいろな部分について ChE 活性値に及ぼす電撃重積の影響をみると, 最も著明に認められるのは大脳皮質である。

対照群に比して第 1 期では 100%, 第 2 期では 50% の増加を示している。その他の領域では第 1 期, 第 2 期を通じて, 第 2 期の小脳皮質が軽度の増加(30%)を示したほか, 対照との間に有意の差を認めない。

4. 回復期の成績

電撃を 44~105 回に亘って施行して電撃重積第 2 期の状態を呈せしめた後電撃中止 1 カ月以上を経過して臨床及及び脳波所見上正常な状態にまで回復せしめた 4 例について ChE 活性値を計測した成績は第 5 表の如くである。

脳の色々な領域について ChE を測定した結果は大脳皮質では 8.8~13.1cmm/mg. d.w/60', 平均 11.0 cmm/mg. d.w/60'; 大脳半球白質 1.8~3.1cmm/mg. d.w/60', 平均 2.6cmm/mg. d.w/60'; 尾状核では 280.0~340.5cmm/mg. d.w/60', 平均 311.5cmm/mg. d.w/60'; 視床では 39.2~51.5cmm/mg. d.w/60', 平均 46.0cmm/mg. d.w/60'; 小脳皮質では 90.4~120.5cmm/mg. d.w/60', 平均 108.1cmm/mg. d.w/60'; 脊髄では 7.2~10.8cmm/mg. d.w/60', 平均 8.6 cmm/mg. d.w/60' である。即ち回復期の ChE 活性値は電撃施行前の正常値に近似する値を示す。この成績は臨床像及び脳波所見が電撃中止と共に全く正常に復する事実と完全に一致する。

第 5 表 回復期脳各部の chE 活性値

実験番号 電撃回数	1	2	3	4	平均
	44	52	95	105	
測定部位					
大脳皮質	12.0*	10.2	8.8	13.1	11.0
髄質	3.1	2.2	2.7	1.8	2.6
尾状核	280.0	315.2	340.5	610.5	311.5
視床	39.2	45.1	48.3	51.5	46.0
小脳皮質	90.4	108.0	120.5	113.4	108.1
脊髄	10.8	8.5	7.2	7.9	8.6

* CO_2 cmm/mg.d.w/60'

IV. 考 按

Nachmansohn¹⁰⁾らの神経伝導体液学説の実験的根拠としては、ChEの伝導組織における偏在、¹²⁾アセチルアシル酵素とそのcoenzymeの存在及びAChの合成酵素であるChAの存在、或いは電気臓器のChE活性値と動作電位が平行関係にあること、更にはAChの分解速度などがあげられる。又組織局所におけるChE活性値はACh代謝の指標たりうると考えられ、従つて中枢神経系についてもChEの分布が検索されている。ChEは安定な酵素で、氷室におけばその活性値は数日間不変のまま保存できるので取扱いに便利である、人及び動物の脳についてChEを測定した報告は尠くない。いま文献について主な報告を通覧するとNachmansohn¹³⁾は動物脳及び人脳のChEの分

布を調べ、被殻、尾状核などの大脳基底核に多いことを報告している。後藤¹⁴⁾、室¹⁵⁾等はこれを確認した。この領域ではAChの生成能も高いことが報告¹⁶⁾されておりACh代謝の旺盛であることを推測させる。Nachmansohnによると脳中ChE活性値は動物の種類及び脳の各部位により異なるが、その値はほぼ一定であるという。動物の種類について比較すると兔>犬>牛>人の順である。

Little¹⁷⁾は犬の脳各部位のChE活性値を測定したが、それによると髄質0.93、小脳皮質9.68、視床5.3、脊髄3.63、尾状核33.59(数値はQ. ACh)であるが、これを CO_2 cmm/mg. d.w/60'に換算し、後藤¹⁴⁾及び私の得た数値を比較すると第6表の如く

第 6 表

部 位 報 告 者	大脳皮質	大脳半球白質	尾状核	視床	小脳皮質	脊髄
Little (1948)	—	6.4	230.0	36.3	66.3	24.9
後藤 (1950)	3.2	1.8	—	—	31.2	6.7
古橋 (1958)	11.3	3.2	307.8	46.1	101.5	10.6

である。

表にみるように、報告者により脳の各部位のChE活性値には差異があるが、Little及び私の計測値が示すように、尾状核の値が最大で、小脳皮質これにつき、視床、脊髄ははるかに小さく、大脳半球が最低値である。後藤の測定値には尾状核と視床が欠けているが、他の部位の測定値の相対比は大体Little及び私のそれに類似している。

中枢神経系各領域のChE活性値に及ぼす電撃重積

の影響は第1期及び第2期を通じて独り大脳皮質に証明された。尾状核は上述のように計測した脳及び脊髄の色々な領域のうちでChE活性値の最も高い部位であるにも拘わらず電撃重積の影響を蒙ることがない。ただ大脳皮質にのみ電撃重積第1期に100%、第2期に58%の増加が認められた。それ故頭部通電はChE活性値に関する限り大脳皮質に強く侵襲するものの如く思われる。

さて、電撃重積によつて発現する大脳皮質のChE

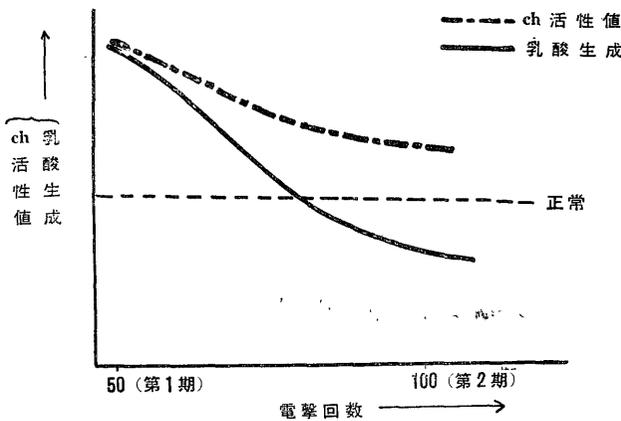
活性値の増加はいかに解釈すべきであろうか。Ach は神経興奮剤と見做し得るであろうから ChE 活性値の増大は神経活動の抑制に対応する変化と解すべきである。

Tower¹⁵⁾ はてんかん発作の焦点をもつ人の大脳皮質の ChE を測定し、焦点部の ChE 活性値が著明に増加していることを報告している。その計測によると、非てんかん焦点部位の ChE 活性値が 0.8 及び 1.05 であるのに対して発作焦点部は 1.45 及び 1.9 $\mu\text{CO}_2/\text{gmm}/60'$ である。即ち発作焦点部は非焦点部に比し、約80%のChEの増加を示す。電撃重積犬大脳皮質に認められる増加はあたかも Tower の実験に

おける発作焦点の見解と一致する。しかし、他面電撃重積犬脳組織には糖代謝の著明な変化が認められるのにてんかん焦点組織では好気性並びに嫌気性糖代謝に全く異常が認められないから両者を同様に意義づけることは困難である。

電撃重積大脳皮質の ChE 活性値は第1期、第2期ともに増加するが、電撃の重積による ChE 活性値の増加を永森²⁾ の報告した乳酸生成の変動とを比較すると第1図の如く差がある。即ち、ChE 活性値は第1期につづいて第2期でも正常値に比して増加するに対し、乳酸生成は第1期において増加するが、第2期には却つて正常値よりも低下する。

第 1 図 電撃重積と ChE 活性値及び乳酸生成



Lipmann (1946)¹⁶⁾ がアセチル COA を発見して以来糖質代謝と Ach 代謝との間には密接な関係が存することは疑いをいれない。従つてもしも ChE 活性値が Ach 代謝の指標たりうるものであるならばこのものと糖質代謝の変動は平行すべき筈である。しかし、

寧ろはこの予想に反する。それ故、ChE の変動から直ちに Ach 代謝を推測することは不可能である。電撃重積による ChE の変動は Ach 代謝の示標とはなり得ない。ChE 活性値の変動は電撃重積がこの酵素蛋白に影響することを意味する。

V. 要 約

電撃重積の脳組織代謝に及ぼす影響を検索するため ChE 活性値を測定した。

生後 1 カ年以上の成犬について電撃を重積し、電撃重積第 1 期 (興奮期)、第 2 期 (麻痺期)、恢復期の大脳皮質、大脳半球白質、尾状核、視床、小脳皮質、脊髄 (頸髄) の 6 部位について ChE 活性値を測定した。結果は次の如くである。

1. ChE 活性値は尾状核が最大で以下小脳皮質、視床、大脳皮質、脊髄、髓質の順である。この順位は対

照群、電撃重積第 1 期、及び電撃重積第 2 期を通じて変わらない。

2. 電撃重積第 1 期 (興奮期) では大脳皮質の ChE 活性値が正常値の 2 倍に増加するが他の部位では正常値の間に有意の差異を認めない。

3. 電撃重積第 2 期 では、大脳皮質の ChE 活性値は第 1 期よりは減少するが正常値に比して高い値を示す。第 1 期と同様他の部位では正常値との間に有意の差を認めない。

4. 大脳皮質の ChE 活性値は回復期には正常値に復する。

稿を終るに当り、終始御懇篤な御指導ならびに御校閲を賜つた

恩師秋元教授に深甚なる感謝の意を表する。併せて本研究遂行に当り種々御後援を得た群馬大学台教授ならびに我教室神経化学研究室の諸兄に深い謝意を表する。

文

- 1) 山田禎一： 神経研究の進歩, 2, 152, (1957).
- 2) 永森丈夫： 精神経誌, 58, 2, (1956).
- 3) 島田昭三郎： 第52回精神神経学会発表.
- 4) 永森丈夫他： 十全会誌. 5) 西谷三
四郎： 精神経誌, 54, 1, (1952). 6)
Loewi, O. & Navratil, E. : Pflüger's Arch.,
206, 135, (1935). 7) **Loewi, O. &**
Navratil, E. : *ibid.*, 214, 678, (1935).
- 8) **Dale, H. H. Feldbug, W. & Vogt, M.** :
J. Physiol., 86, 353, (1936). 9) **Brown,**
G. L., Dale, H. H. & Feldberg, W. : *ibid.*,
87, 394, (1936). 10) **Nachmansohn,**
D. : Phosphorus Metabolism 1, 568, (1951).
- 11) **Ammon, R.** : phluegers Arch. ges. phy-
siol., 233, 486, (1934). 12) **Nachmansohn,**

献

- D.** : Metabolism and Function of the Nerve
Cell, in Neurochemistry edited by K. A. C.
Elliott (1955). 13) **Nachmansohn, D.** :
Bull. Soc. Chim. Biol., 21, 761, (1939).
- 14) 後藤： 日新医学, 37, 434, (190).
- 15) 室： 日新医学, 44, 223, (1957).
- 16) **Feldberg, W., Vogt, M.** : J. physiol.,
107, 372, (1947). 17) **Little, J. M.** :
Am. J. physiol., 155, 60, (1948). 18)
Tower, D. B. : The Neurochemistry of
Seizures in Neurochmistry edited by korey,
169, (1956). 19) **Lipmann, F. &**
Kaplan, N. O. : J. Biol. Chem., 162, 743,
(1946).