神経化学

Bulletin of the Japanese Neurochemical Society

Vol. 7, No. 2, 1968

日本神経化学会

精神分裂病・躁うつ病の治療に‥

プロピタン 錠・散

ピパンペロン製剤

ブチロフェノン系薬剤プロピタン錠はベルギーの Dr. C. Janssen により開発されたもので，フェノチアジン系，レセルピン系に次ぐ第三の向精神薬として注目されている。特に幻覚・妄想などの異常体験を主症状とする精神疾患に優れた効果を発揮し，陳旧化した分裂病の自閉，自発性欠如の改善にも独特の効果が見られる。

健保薬価　50 *mg*　1 錠　38円50銭
10%　1 *g*　77円10銭

トラキラン 錠・顆粒

クロルプロチキセン製剤

トラキランは感情領域の疾患，特に自閉・自発性減退等を主症状とする分裂病の精神レベルを高揚し，従来各種の向精神薬で奏効しなかった難治例にも独特な作用を示し，他の療法への誘導を容易にする。又抗抑うつ作用のほか強力な鎮静作用を有しており，過度の抑圧を来たすことなく優れた静穏効果が得られる。

健保薬価　15 *mg*　1 錠　14円70銭
50 *mg*　1 錠　44円
10%　1 *g*　87円90銭

てんかん小発作治療剤

エピレオ・プチマル

エピレオ・プチマルは種々の小発作型に対して広範囲に臨床発作を改善するばかりでなく，これらに特有の異常脳波像を著明に改善する。欠神発作にはもちろん従来の薬剤では難治とされているミオクロヌス発作・失立発作にもかなり高率に発作抑制が期待できる。又肝障害，盖明，発疹などの副作用がないので安心して長期間投与できる。

健保薬価　1 カプセル　13円20銭

Eisai エーザイ
東京都文京区小石川4丁目
エーザイ株式会社
大阪・札幌・名古屋・福岡

提　言

先日，ある外賓と一緒に徳島へゆき，竹林院という禅寺へまいりましたら，黄檗山萬福寺の開祖，隠元和尚が，尼僧実際に示した立派な書が掲げられていました。中国人の字ですから解読にてこずっていましたら，中西某という土地の漢学者が訓読した刷りものがあるということで，見較べながら，やっと大意を了解することができました。その書示の最後は「生死未断不可妄陳」(生死未だ断ぜずして妄陳すべからず) と結んでありました。つまり，生死を超越できない人間は，グチャグチャ文句をいうなという，禅の悟りを教えたものですが，われわれ俗人にはなかなかむつかしい訓えです。せめて「棺をおうて定まる」という程度の俗世的な評価法ぐらいならよく了解できます。これは研究についてもいえることで，一時は派手にデヴューした仕事でも後世に何の影響も与えないお粗末なものもあれば，その反対のケースもあります。

阪大に，昔，小澤修造という内科の教授がおられて，1913年に種々のモノサッハリドの赤血球への取り込みについて研究された成績を Z. Physiol に発表されました。これが世界ではじめての active transport の研究の端緒をなすもので，実に 50 年近くを経てその意義の重大さに人が気付いたのであります。先生は赤血球をリンゲル液に浮游させ，メディウムに種々の単糖類を加え光学活性によって取り込みの選択性があることを立派に証明されたのです。先生は退官後比較的お早く亡くなられたのですが，糖尿病動脈硬化心筋硬塞が死因でした。先日，先生に可愛がられたという老婦長に，先生の御研究の話をしていると，赤血球への糖の取り込みは，御自身が糖尿であったために，興味をもたれたに違いないという意見でした。人間小澤修造にとって糖尿は不幸な疾病であったのに，これが世界の研究に役立ったことは，生死を超越した出来事であったともいえます。

研究の指導者にも，存命中に，いろいろな批判が行なわれますが，これも死んでみないと当否はわかりません。図は 1964 年に Prof. Lynen がノーベル賞を受けた祝賀記念講演会に，脂酸合成の複合酵素の研究に中心的役割りを果したといわれる Dr. Lorch が描いた由の漫画で，多くの弟子の背を踏み台にして，ノーベル賞という太陽に招かれて歩いてゆく姿です。大変皮肉な漫画ですから，普通の人ならカンにさわりそうなものですが，松橋通生君の話によると，つぎのような挨拶が行われたのだそうです。(日本臨床 **26**, 203, 1968 より引用)。

「親愛なる生徒諸君，私は教師として私の話を一つの叱言から始めねばならない。この画には愛すべき女性たちの姿が欠けている。日常の研究生活で私を助けてくれたのは男性たちだけではない。女性たちもまた私の学問的業績に欠くべからざる貢献をした。ここで私はまたしても私の家内のことをいうのではない。女性たちとは長い年月の間研究室で私をまことに行動的に支えてくれた人たちである。まず Beatrix Hottenroth にはじまる一連の女子学生が心に浮かぶが，次に２人の特に優れた実験助手がある。この２人はまったくのところ私自身の手のかわりになって多くの実験を共同して計画し，熟練した技術で成功に導いた。加うるに Caecillie Hoffmann をはじめとする勤勉な秘書たちを忘れることはできない。これらの人たちが皆，今日ここに集まって祝賀にのぞんでいられるのは，私の大きな喜びである」。



弟子がこんな漫画を講堂に貼りつけたり，またそれに対してユーモアに満ちたシッペ返しをしたりする人間関係を持てる Prof. Lynen が，本当に自分の弟子を踏み台にして栄誉のみを追う人かどうかは，彼が死んでみないと判りませんが，多分堂々たる Schule が生き残っていくと思います。

神経化学会は，稀にみる批判のきびしい学会です。これからもそうであってほしいと思います。あくまで真実を追い，非難攻撃をお互いが素直にやり会ってこそ，それが「妄陳」でなく，「科学する」という不動の一念をつらぬくことになるのでしょう。誠意ある批判は，禅の棒にも通じるものと思われます。鉄崖和尚は「棒に題する偈」としてつぎの五言絶句を達筆で書いています。

一棒一条痕，辛酸不可論，丈夫意気多，幾箇是知恩

（師にたたかれた棒の痕が一すじ残っています。つらいつらい。だけど丈夫意気多くて，つい，たたかれる破目となりました。幾箇か是れ恩は知っています。）

図は松橋君が Lorch 氏にことわりなく日本臨床に掲載し，それを小生が盗用したものですが，これは罪にならず，おしゃか様もキリスト様もお許し下さるでしょう。

事務局から御依頼の「提言」をするのはきらいなほうでないのですが，さし当って，神経化学会員の諸兄姉に提言をする具体的な問題も想い浮んできません。ですから，日曜日の随想のようなことを書いて責めを果させていただきました。

佐　野　　勇
（大阪大学医学部教授
高次神経活動研究所）

神経化学 Vol. 7, No. 2, pp. 65～72, 1968

[原 著]

灌流ネコ脳における [U-^{14}C] グルコースの代謝—機能との相関—

二宮淳明

(岡山大学医学部 精神神経科教室)

[U-^{14}C] グルコースを含む人工血液でネコ脳灌流を行ない，脳内糖質中間代謝物と呼吸炭酸ガスの炭素原子あたりの比放射能の血液グルコースの炭素原子あたりの比放射能に対する比，すなわち比較的比放射能を調べ脳機能との関係をみた。脳機能は皮質脳波を指標とし，速波を主体とするものをA群，徐波を主体とするものをB群，ほとんど平坦化したものをC群とした。

1. 脳機能の良いA群では，グルタミン酸の比較的比放射能は80%，アスパラギン酸75%，グルタミン61%，γ-アミノ酪酸43%，呼吸炭酸ガス55%で，グルタミン酸，アスパラギン酸のようなクエン酸サイクルに直接関連するアミノ酸の炭素原子の大部分は血液グルコースに由来していた。

2. 脳機能水準の低いB群では，各アミノ酸の比較的比放射能はかなり低下し，グルタミン酸，アスパラギン酸の比較的比放射能はおよそ50%に，呼吸炭酸ガスの比較的比放射能も27%に低下した。

3. C群では，各アミノ酸や呼吸炭酸ガスの比較的比放射能はさらに低い値を示した。

4. このように，脳の機能の低下にともなって解糖呼吸系への内在性基質の寄与が増大することを認めた。乳酸の比較的比放射能はA, B, C各群でおよそ同じで脳機能変化の影響を受けていないが，その内在性基質の寄与は主にピルビン酸が脱炭酸されてクエン酸サイクルに入る過程で，脳機能が低下するほど増大していた。

5. 脳機能の低下に従って，γ-アミノ酪酸の代謝回転は増加していた。

6. A群では，脳にとり込まれたグルコースのおよそ34%が炭酸ガスにまで完全酸化されていた。しかしながら，炭酸ガスの代謝的コンパートメントを考慮すれば，その値は最小値を示していると思われる。

(受付 1968, 2, 29)

緒 言

グルコースが脳のエネルギー代謝で利用される炭素原子の主な供給源であることは一般に認められている。脳にとり込まれたグルコースは，一部は酸化されて炭酸ガスになり，一部は脳のアミノ酸，蛋白，リピドに保持される (Winzler, Moldave, Rafaelson & Pearson, 1952; Beloff-Chain, Cantazaro, Chain, Massi & Pocchiari, 1955; Allweis & Magnes, 1958a,b; Geiger, 1958; Roberts, Flexner & Flexner, 1959; Vrba, Gaitonde & Richter, 1962; Otsuki & Geiger, 1963; Cremer, 1964)。これらのうち，アミノ酸は他の組織に比べ脳に比較的多量に存在し，なかでもグルタミン酸，アスパラギン酸およびそれらの誘導体は脳内総遊離アミノ酸のおよそ75%を占める (Waelsch, 1957)。Geiger (1962) は [U-^{14}C] グルコースを用いた脳灌流実験で，脳内アミノ酸や呼吸炭酸ガスの炭素原子あたりの比放射能 (以

Utilization of [U-^{14}C] Glucose in Perfused Cat Brain

Kiyoaki Ninomiya

Department of Neuro-Psychiatry, Okayama University Medical School, Okayama.

下 SA と略す）の血液中グルコースの炭素原子あたりの SA に対する比，すなわち比較的比放射能（以下 RSA と略す）を調べ，内在性基質が解糖呼吸系に相当関与していることを認めている。またアミノ酸や呼吸炭酸ガスの RSA は，メトラゾールによる痙れん時（Geiger, Kawakita & Barkulis, 1960），低酸素血のとき（Geiger, Gombos & Otsuki, 1961）あるいは iproniazid などの薬物投与によって（Geiger, Gombos, Otsuki, Aguilar, Gethelf, Scruggs & Whitney, 1962），変化することが報告されているが，なお脳の機能との関連についての知見に乏しい。

この研究では，[U-^{14}C] グルコースを用いてネコ脳灌流実験を行ない，皮質脳波を指標とした脳の機能とグルコース代謝との関係を調べた。

実 験 方 法

1. 実験動物および手術

体重 2～3 kg の成猫 12 匹を用い，手術前処置としてペントバルビトン 45 mg/kg を腹腔内に注射した。

脳循環の分離は，原則として Geiger & Magnes (1947) の方法に従ったが，一部は池田（1961）によって改良されたものを用いた。その術式の原理は，頸動脈の分枝および椎骨動脈をすべて結紮して動脈血は脳以外の部分を通らないようにし，さらに脳からの静脈系をすべて結紮遮断し，脳の静脈血は sinus transversus の上の骨に挿入された特殊カニューレを通して集めるというものである。

2. 灌流装置および方法

貯血槽内で氷冷された人工血液は，人工心ポンプ（メラ製ローラー型ポンプ）により送り出され，フィルターを通り，調圧器で一定流圧となり，恒温槽で約 38°C に温められて脳に至る。そして，sinus transversus より導出された静脈血は試料に用いるために回収し，再び脳を循環しない開放式にした。この間，脳血流量（日本光電製電磁流量計），血液温度（日本光電製電子サーモメーター），動静脈血の酸素飽和度（エルマ製オキシメーター），静脈血 pH（東亜電波製 pH メーター）を連続記録した。実験時間は 70～104 分で，その間流圧 110～140 mmHg, 流量 110～130 m*l*/100 g 脳/分に保った。

3. 人工血液組成

組成は表 1 に示す。人工血液 2,500 m*l* に [U-^{14}C] グルコース 10 μC（第一化学製）を加えた。従来，人工血液の膠質滲透圧を保つために牛アルブミン (Fraction V) (Geiger et al., 1947; Geiger, 1958) あるいは高分子ヒドロデキストラン（池田, 1961; 渡辺, 1961; 山田, 1962）が用いられて来たが，本実験では低分子デキストラン

表 1 人工灌流血液組成

Bovine erythrocytes	500 m*l*
12% Dextran (average M.W. 40,000) in Krebs-Ringer solution	500 m*l*
Bovine serum albumin	2000 mg
1.3% Natrium bicarbonate	50 m*l*
Cytidine monophosphate-2Na	80 mg
Glucose	1000 mg

Amino acids mixture (mg)

Arg	27.1	Gly	18.0	His	12.9
Ile	19.8	Leu	30.0	Lys	57.6
Met	20.4	Phe	28.8	Thr	21.0
Try	9.0	Val	19.2	Tyr	20.0

Vitamines mixture (mg)

A	1000 i.u.	B_6	0.4	D	100 i.u.
B_1	1.0	B_{12}	4×10^{-4}	Nicotinamide	4.0
B_2	2.2	C	10.0	D-Pantothenol	1.0

（森光, 1968）を用いた。また必須アミノ酸のすべてとグリシン，チロシンを正常ネコ血漿濃度に近似した濃度に加えた。チロシンを加えたのは，血液中のチロシンを欠く脳灌流では灌流時間 1 時間以上で，脳遊離チロシンが著明に減少することを認めたからである（大月，渡辺，枝松，中島，帆秋，二宮，光信，三宮，奥村，1967）。

4. 脳機能の観察

脳機能の指標は主として皮質脳波によった。その電極は押ピンを用い，極間 10 mm とし硬膜に接するよう固定した。そのほか，自発運動，角膜反射，痛覚，触覚，音刺激に対する反応を随時検査した。

5. 脳標本および脳動静脈血の化学的分析

脳標本は頭蓋骨を除去したのち，灌流を持続しながら 1～2 秒間で摘出し直ちにドライアイスーアセトンにて凍結させた。脳摘出時間は灌流開始後 70～104 分であった。化学的分析には皮質のみを用いた。動脈血および静脈血の試料は灌流をはじめて 20, 40, 60, 80 分に同時的に採取した。

i) 酸素炭酸ガス含有量；Natelson 微量ガス分析法 (1951)。

ii) グルコース；Somogyi 法 (1945) による除蛋白液を Saifer & Gerstenfeld (1958) の glucose oxidase 法。

iii) 乳酸；Barker & Summerson 法 (1941)。

iv) ニンヒドリン陽性物質；Rosen (1957) のニンヒドリン改良法。

v) アンモニア窒素；Conway 微量拡散分析法 (1957)。

vi) グリコーゲン；Carter & Stone 法 (1961)。

vii) 遊離アミノ酸の分離，定量；脳の TCA(5%) 上清を Dowex 50-×4 H^+ 型カラムで中酸性分画（水によ

る溶出液）とアミノ酸分画（4N アンモニア水による溶出液）に分けた。このアミノ酸分画をロータリー・エバポレーターにより減圧乾燥したのち Amberlite CG 4B-T2 酢酸型カラム（0.9×15 cm）に通し，ユニグラード（三田村理研製）で 0.5 M 酢酸 100 ml 中に 4 M 酢酸を加えて酢酸濃度を直線的に漸増する gradient elution により，中塩基性アミノ酸分画，グルタミン酸，アスパラギン酸を分離した（Kurahasi (1964) の変法）。中塩基性アミノ酸分画を 2N HCl で 100°C 2時間加水分解し，グルタミンをグルタミン酸として上記カラムで分離した。γ-アミノ酪酸（以下 GABA と略す）の分離は Berl, Lajtha & Waelsch (1961) の方法により，TCA 上清を Dowex 50 H^+ 型カラムで脱塩した分画を Dowex 50×4 Na^+ 型カラムによりクエン酸緩衝液によって溶出した。

viii) グルコースの分離；脳の Somogyi 法による上清を用い，Dowex 50-×4 H^+ 型カラムによる水溶出液を Dowex 2-×8 OH^- 型カラムにつけ水溶出分画をグルコース分画とした。

ix) 乳酸の分離；5% TCA 上清の Dowex 50-×4 H^+ 型カラムによる水溶出液（前述の中酸性分画）を Dowex 1-×8 酢酸型カラムにつけ，2N 酢酸によって溶出する分画を乳酸分画とした。

6. 放射能の測定方法

各試料の一定量を計数ビン内で蒸発乾固したのち 1M ハイアミンのメタノール溶液 0.3 ml に溶かし，トルエン 1 l 中に 4 g の 2-5 diphenyloxazole (PPO) と 100 mg の 1,4-bis-2(4-methyl-5-phenyloxazolyl)-benzene (Dimethyl POPOP) を含む溶液 15 ml を加え Packard liquid scintillation spectrometer で測定した。一部の試料では試料を蒸発乾固することなく，0.5 ml の試料に PPO と Dimethyl-POPOP を含むトルエン-エタノール (7 : 3) 溶液 12 ml を加えたのち同様に放射能を測定した (Hall & Cocking, 1965)。各試料の計数効率は ex-external standardization により補正し，disintegration per minutes(dpm) とした。

炭酸ガスの放射能は血液 4 ml に流動パラフィン下で 1N NaOH 1 ml を加え攪拌溶解したのち，1 ml を Conway 容器外側室内で 1N 乳酸 1 ml を加えて炭酸ガスを遊離させ，1M ハイアミンのメタノール溶液を浸ませた濾紙片を容器の中央内室に置き，90分放置後この濾紙に吸着した $^{14}CO_2$ を前記トルエン-PPO-dimethyl POPOP 液に入れて測定した。

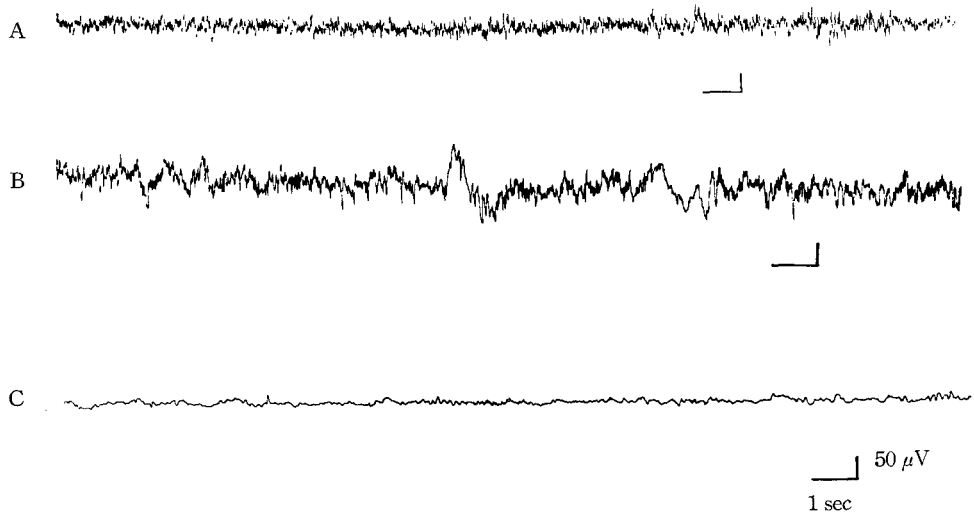
血液中グルコースの放射能は Somogyi 法の上清の一定量をそのまま試料としてトルエン-エタノール混液を用いて測定した。

脳組織は血管に富む組織であり，灌流脳においても血液を contamination として脳重量の 1% 含んでいる (Gombos, Geiger & Otsuki, 1963)。したがって，脳組織内の放射能にその 1% の血液放射能が含まれているものとして補正した。

実 験 結 果

灌流人工血液の膠質滲透圧保持剤として従来用いられて来た牛アルブミン (Fraction V) あるいは高分子ヒドロデキストランにかえて，低分子デキストラン（平均分子量，40,000）を用いると灌流脳の機能はより高い水準に維持されるようになった。さらに代謝的にも，酸素消費とグルコース消費の経時的減衰および乳酸生成の経時的増加はみられず，70～104 分の実験期間を通じてそれ

図 1 A, B, C 各群の代表的脳波



らはほぼ一定に保たれ，より生理的状態に近づけ得た（森光，1968）。しかしながら，脳灌流実験は非常に複雑な手術を要するため，時には偶発的に低機能な脳波を示すものもみられた。それらを脳波水準に従って次の3つの群に分けた。すなわち，灌流をはじめて 40 分から実験終了までの脳波が，速波成分を主体とするものをA群（4例），徐波成分を主体とし速波の少いものをB群（4例）ほとんど平担化したものをC群（4例）とした（図1）。いずれの群においても灌流開始40分から実験終了までの脳波はそれぞれの水準で一定であった。A群の脳波は実験終了まで速波を主体とし，無拘束ネコの覚醒時パターンに近かった。GEIGER et al. (1947) は手術前処置として用いたペントバルビトンの影響は，脳灌流をはじめて 6～8 分にはなくなることを認めている。本実験においても，A, B, C いずれの群も灌流開始後 20 分以内にペントバルビトン麻酔の影響は脳波上完全に消失しており，さらに角膜反射，痛覚，触覚，音刺激に対する反応も回復した。

脳の動静脈血差と血流量から計算した代謝率を表2に示した。炭酸ガス生成，グルコース消費，乳酸生成およびアンモニア生成は，各群で有意な差を認めなかった。グルコース消費はC群でやや多い値を示しているが，A群でのバラツキが大きく明らかな差ではなかった。酸素消費はC群でやや減少していた。

脳内物質の定量では，グルコースはA群で減少傾向，乳酸はC群で増加傾向，グリコーゲンはC群で減少傾向が認められたが，いずれも統計的には有意差ではなかった。脳内アンモニアと遊離アミノ酸では各群でほとんど変化が認められなかったが，GABA のみは脳機能の低下とともに減少していた（表3）。

脳内糖質中間代謝物や呼吸炭酸ガスの血中グルコースに由来する割合が脳機能の変化によってどのように変化するかを見るため，各物質の炭素原子あたりの SA の血中グルコースの炭素原子あたりの SA の比，すなわち比較的比放射能（RSA）を調べた（表4）。これら各種物質の RSA は脳の機能と密接な関係を有し，その機能

表 2 代 謝 率

EEG Level	A	B	C
No. of Exp.	4	4	4
O_2 Consumption	2.30±0.37	2.32±0.37	1.94±0.15
CO_2 Output	2.11±0.74	1.68±0.03	1.94±0.66
Glucose Uptake	0.42±0.20	0.41±0.03	0.50±0.08
Lactate Output	0.33±0.02	0.26±0.06	0.30±0.11
NH_3 Outpt	0.030 ±0.026	0.032 ±0.010	0.029 ±0.014

単位： μ mole/g brain/min

表 3 各物質の脳内含有量

EEG Level	A	B	C
No. of Exp.	4	4	4
Glucose	0.67±0.32	1.25±0.23	0.97±0.08
Lactate	5.66±2.38	4.88±0.93	8.35±3.14
Glycogen	3.35±0.43	5.83±1.07	2.30±0.25
NH_3	0.67±0.20	0.47±0.18	0.62±0.31
Glutamate	6.10±1.59	5.67±1.28	5.75±1.29
Aspartate	1.72±0.48	1.30±0.65	1.39±0.10
Glutamine	2.06±0.75	4.20±1.70	3.12±1.18
GABA	1.31±0.34	0.84±0.22	0.66±0.12
Total Amino Acids	38.3±8.0	32.3±2.3	36.4±6.5

単位： μ mole/g brain

表 4 各物質の比較的比放射能（RSA）

EEG Level	A	B	C
No. of Exp.	4	4	4
Glutamate	79.9±4.88	50.2±1.99	30.9±5.18
Aspartate	74.6±15.2	51.7±9.71	32.8±15.4
Glutamine	60.8±11.9	31.1±7.18	17.4±3.45
GABA	42.7±3.50	29.9±4.30	29.2±6.29
Glucose	——	85.2±9.60	90.4±10.7
Lactate	74.9±16.0	67.3±18.5	63.3±8.92
Respiratory CO^2	55.1±13.8	27.0±10.9	13.4±2.98

$$RSA=\frac{\text{SA (dpm/}\mu\text{mole Carbon Atoms) of Metabolites in Brain}}{\text{SA (dpm/}\mu\text{mole Carbon Atoms) of Blood Glucose}}\times 100$$

によって変化することがわかった。A群では，グルタミン酸，アスパラギン酸のようなクエン酸サイクルと直接関連するアミノ酸の炭素原子の 70～80% は，血液グルコース炭素に由来していた。グルタミンの RSA はそれらよりやや低く，GABA の RSA はグルタミン酸の RSA のおよそ 1/2 であった。呼吸炭酸ガスの RSA は 55% であった。B群では，各アミノ酸の RSA はA群に比しかなり低下し，グルタミン酸，アスパラギン酸はおよそ 50% に，グルタミンは 30% になった。しかしながら，GABA の RSA の低下の割合は少なかった。呼吸炭酸ガスの RSA は 27% であった。C群では，グルタミン酸，アスパラギン酸，グルタミンおよび呼吸炭酸ガスの RSA はさらに低い値を示すが，GABA の RSA はほとんど低下せずグルタミン酸の RSA に近くなった。

脳内乳酸の RSA はかなりバラツキがみられたが，各群の間に有意な差はなく平均値はおよそ 60～70% であった。

表 2,3,4 から脳灌流1時間における [U-^{14}C] グルコースからの各代謝物への ^{14}C 放射能の分布を計算した

表 5 [U-^{14}C] グルコースからの ^{14}C 放射能の分布

EEE Level	A		B		C	
Glucose Uptake	151.2	% 100	147.5	% 100	180.0	% 100
Brain Glucose	4.0	2.6	7.5	5.1	5.8	3.2
Lactate	12.7	8.4	9.9	6.7	15.9	8.8
Glutamate	24.4	16.1	14.2	9.6	8.9	4.9
Aspartate	5.1	3.4	2.7	1.8	1.8	1.0
Glutamine	6.3	4.1	6.6	4.5	2.7	1.5
GABA	2.2	1.5	1.0	0.7	0.8	0.4
Venous CO_2	52.2	34.3	20.4	13.8	11.7	6.5
Lactate	33.6	22.2	23.2	15.7	25.5	14.1
Total	140.5	92.6	85.5	57.9	73.1	40.4

分布の計算は RSA×(Number of Carbon Atoms) ×μmole/g/hr で行った。

(表5)。この計算のうち，脳内被検物質への ^{14}C 放射能の分布は灌流 60 分以後本篇の実験時間の範囲では平衡を保つので，A, B, C 各群の値をそのまま用いた。静脈血中の乳酸と呼吸炭酸ガスは灌流をはじめて 30 分後まで直線的に増加し，それ以後は平衡に達するものとして計算した (Allweis et al., 1958 b; Geiger et al., 1960)。また，静脈血中に遊出した乳酸の SA は，脳内乳酸の SA と等しいものとして計算した。A, B, C 各群を通じて，脳内グルコースには 3～5%，乳酸には 7～9% 分布し，脳の機能状態による変化はみられなかった。遊離アミノ酸および呼吸炭酸ガスにおける ^{14}C 放射能の分布は，脳の機能と密接な関係がみられ，機能の低下とともに ^{14}C 放射能の分布率も減少した。すなわち，これら4つのアミノ酸への ^{14}C 放射能分布の総計は，A群では 25.1%，B群 16.6%，C群 7.8% であった。しかし，考察の項で詳述するが，この呼吸炭酸ガスの値は代謝的コンパートメントを考慮すれば，最小値を示していると思われる。また，脳にとり込まれた [U-^{14}C] グルコースの被検物質の総計における回収率は A群 93%，B群 58%，C群 40% で，脳の機能状態による著明な変化がみられた。

考　　察

本実験では，脳の代謝率は脳波を指標とした脳機能状態の高低によって顕著な変化を示していない。ただ，酸素消費はA群に比しC群で減少している。Gleichmann, Ingvar, Lassen, Lubbers, Siesjö & Thews (1962) は局所脳皮質の酸素消費を測り，脳波パターンとの密接な相関を認めている。本実験ではそれほど明らかな差はみられていないが，これは全脳と脳皮質局所といった対象の相異によると思われる。また，低機能状態で乳酸遊出量が増加しないのは，cytidine monophosphate による効果のようである。Geiger & Yamasaki (1956) は灌流血液にシチジンとウリジンを加えることによって，灌流脳の炭水化物代謝を正常化することが出来ると報告し，大月ら (1965) は，シチジンモノ燐酸ソーダとウリジンモノ燐酸ソーダの灌流血液への添加によって，灌流脳のグルコース摂取量の経時的減少と乳酸遊出量の経時的増加を防ぐことを報告した。シチジンモノ燐酸ソーダ単独の添加でもほぼ同様の効果がみられた。

調べた脳内物質では，脳の高水準機能を示すA群においてグルコースが他の群に比較してやや低い傾向が認められた。A群におけるグルコース量は興奮時の量に一致している (King, Lowry, Passonneau & Venson, 1967)。C群におけるほどの低機能状態では軽度ではあるが，脳内乳酸の蓄積とグリコーゲンの減少が認められた。GABA 含有量は機能の低下とともに減少しているが，その他の遊離アミノ酸量は脳機能の変化による影響をほとんど受けていない。Barkulis, Geiger, Kawakita & Aguilar (1960) は，安静時，麻酔時およびメトラゾールによる痙れん時も脳内アミノ酸プールの量や組成に変化がみられなかったと報告している。枝松 (1967) は無糖血による脳灌流でも脳内遊離アミノ酸量に著明な変化を認めていない。本実験での GABA 含有量の減少についてはのちに考察する。

他の組織に比べて，脳にはグルタミン酸，アスパラギン酸，GABA が大量に存在し，グルコースはそれらアミノ酸の最もすぐれた前駆物質であることが知られている (Roberts et al., 1959; Koeppe & Hahn, 1962; O'Neal & Koeppe, 1966)。また，それらのアミノ酸は [^{14}C] グルコースを用いた実験で，[^{14}C] グルコースから速やかに ^{14}C 放射能を組み込み，しかも脳内放射能の 70～80% を占め (Barkulis et al., 1960; Gaitonde, Richter & Vrba, 1962; Cremer, 1964)，その組み込みの割合は肝，腎など他の組織の数倍であることが報告されている (Vrba et al., 1962; Gaitonde, Dahl & Elliott, 1965)。このように脳におけるグルコースの代謝は，アミノ酸との密接な関係が特徴の一つとしてあげられ，したがってこの点は脳の機能との関係についても注目されているところである。本実験では前述のごとく，脳の代謝率や脳内物質含有量からみると脳の機能状態による特異的変化に乏しいが，[U-^{14}C] グルコースからの脳内糖質中間代謝物や呼吸炭酸ガスへの ^{14}C 放射能の組み込みの様子は，脳の機能に対応した変化がみられ興味ある結果を示している。すなわち，脳機能の良いA群ではグルタミン酸，アスパラギン酸の RSA は 70～80% と高く，グルタミン酸，アスパラギン酸の炭素の大部分は

血液中グルコース炭素に由来しているが，B，C群のように機能が低下するにともなってその割合は減少している。グルタミンでも同様の傾向がみられるが，その値はグルタミン酸，アスパラギン酸のRSAよりいつも低く，グルタミン酸のRSAのおよそ 60～75% である。

GEIGER (1962) は同様に各物質の RSA を調べ，脳内乳酸の RSA 50%，グルタミン酸 34%，アスパラギン酸 24%，グルタミン 23%，GABA 14%，呼吸炭酸ガス 32% であったと報告している。この結果から，グルコースからピルビン酸までの過程でグルコース以外の内在性基質によって 50% 希釈され，さらにクエン酸サイクルにおいて α-オキソグルタール酸からオギザロ酢酸への過程でも希釈されることを認めている。彼の各物質の RSA の値は，本実験のA群の値より著明に低く，B，C群の値に相当している。また，内在性基質による希釈の部位についても様相を異にしている。本実験では，A，B, C いずれの群も乳酸の RSA はほとんど変化なくおよそ 70% であるにもかかわらず，グルタミン酸，アスパラギン酸の RSA は A 群では乳酸の RSA に大体等しく，B, C 群では乳酸の RSA よりも低下している。このことは，グルコースから乳酸に至る解糖経路は脳の機能状態によって影響を受けていないことを示す。脳の機能状態によって最も著しい影響を受けるのは，ピルビン酸が酸化的脱炭酸を経てクエン酸サイクルに入って代謝される過程であり，機能が低下するにしたがってこの部位に内在性基質による希釈が増加している。しかしながら，グルタミン酸とアスパラギン酸の RSA は各群でそれぞれ同じ値であり，α-オキソグルタール酸からオキザロ酢酸への過程での内在性基質によると思われるような希釈は認められていない。

脳の呼吸炭酸ガスの RSA も脳機能状態を著明に反映している。A群では呼吸炭酸ガスのおよそ 55% はグルコースに由来しているが，機能の低下にともなってその割合は減じ，グルコース以外の内在性基質に由来する割合が増加することを示唆する。しかしながら，呼吸炭酸ガスの RSA は A, B, C いずれの群においても乳酸，グルタミン酸，アスパラギン酸の各 RSA から予想される値よりも相当低い。これは，本実験の呼吸炭酸ガスは脳静脈血中の炭酸ガスであり，その SA が脳組織内の炭酸ガスの SA の平均値を表わしておらず，循環血液中に存在するアミノ酸が脳の限局された代謝コンパートメントで酸化されて生じた炭酸ガスを混じているためと推測される。

呼吸炭酸ガスのかなりの量が内在性基質に由来しているという報告は多く，以前の脳灌流実験でもこのことは確認されている (ALLWEIS & MAGNES, 1956, 1958 b; GEIGER et al., 1960; MAGNES, ALLWEIS & ABELES, 1967)。これに反し，HOROWICZ & LARRABEE (1962) はラットの摘出交感神経節の実験で呼吸炭酸ガスは全てグルコースに由来すると報告し，灌流実験の結果と比較して灌流脳では呼吸系に何らかの異常な制限があるのではないかと提唱した。しかしながら，*in vivo* ではヒト，(SACKS, 1961)，ネコ (GOMBOS, OTSUKI, SCRUGGS, WHITNEY, SCHMOLINSKE & GEIGER, 1963; BARKEI & ALLWEIS, 1966) において，*in vitro* (HOTTA, 1962; BARBATO & BARBATO 1964) でも脳灌流実験と同様に内在性基質による希釈が認められており，灌流脳に代謝の異常が仮にあるにしても，生理的状態からの甚だしい偏位があると即断することは出来ない。

このような希釈に関与する内在性基質としては蛋白，核酸，リピドが示唆されており (GEIGER, 1956, 1958)，ABOOD & GEIGER (1955) は無糖血で脳灌流を行ない，脳内の蛋白やリピドの減少を認めている。また，ALLWEIS, LANDAN, ABELES & MAGNES (1966) は灌流脳で [U-^{14}C] パルミチン酸が僅かではあるが酸化されて炭酸ガスになることを示し，O'NEAL, KOEPPE & WILLIAMS (1966) は in vivo の羊脳で低級脂肪酸が脳内でクエン酸サイクルを経て代謝されることを示している。さらに，血液中より脳にとり込まれる種々のアミノ酸による希釈もある。脳灌流実験で [U-^{14}C] ロイシン (WATANABE, GOMBOS, KURAHASI & ABOOD, 1965)，[U-^{14}C] アスパラギン酸 (GOMBOS, GEIGER & OTSUKI, 1963)，[U-^{14}C] グルタミン酸 (中島，1967) を用いて，脳の呼吸炭酸ガスのおのおのおよそ 1% が，それぞれのアミノ酸に由来していると報告している。

本実験の GABA についての知見は興味あるものであり，GABA は他のアミノ酸より一層緊密に脳機能に関係しているようである。低酸素血状態においては GABA が増量するという報告があるが (DRAVID & JILEK, 1965)，低酸素血状態でない脳灌流では脳機能の低下にしたがって，脳内 GABA 濃度は減少している。その RSA は他のアミノ酸のような著しい低下がみられず，C群ではグルタミン酸の RSA とほとんど等しくなっている。このことは，低機能になるとともに GABA の代謝回転が増加することを示す。野口，塚田 (1966) は実験的高フェニールアラニン血症のラットと猿で，GABA の代謝回転が増加することを認めている。

血液中グルコースからの ^{14}C 放射能の分布は，脳内グルコース，乳酸では A, B, C, 各群で変化していないがアミノ酸，呼吸炭酸ガスでは脳機能の低下にともなって減少し，そのため，脳にとり込まれたグルコースの調べた物質における総計の回収率はA群 92.6%，B群 57.9

%，C群 40.4% となっている。この回収率がB群とC群で低いのは，本実験で調べていない代謝物質へ移行していると考えられるが，グリコーゲン，解糖系中間代謝物質，クエン酸サイクルに関連した有機酸，そのほか蛋白，リピドなどのうちで ^{14}C 放射能の分布がなにに最も大きいかという問題は残された興味ある問題である。呼吸炭酸ガスはA群では 34.3% で，脳にとり込まれたグルコースのおよそ 34% が炭酸ガスにまで完全酸化される。しかしながら，この値は前述の代謝的コンパートメントを考慮すれば，その値の最小値を示している。

本論文の要旨は第 10 回神経化学会（1967 年10月東京）で発表した。奥村二吉教授の御校閲を感謝いたします。また直接の御指導，教教示をいただきました大月三郎講師，渡辺昌祐講師，ならびに実験にあたって御援助をいただきました中島博士，森光，枝松，帆秋，光信，三宮医学士に深く感謝します。なお本実験は財団法人慈恵会医学研究所で行なわれたものであり，所長伊原重彦博士をはじめ所員のみなさまに感謝します。

文　　献

Abood L. and Geiger A. (1955) Amer. J. Physiol. **182**, 557.

Allweis C., Landan T., Abeles M. and Magnes J. (1966) J. Neurochem. **13**, 795.

Allweis C. and Magnes J. (1956) Abstr. 20th Int. Physiol. Congr. p. 21.

Allweis C. and Magnes J. (1958a) Nature, Lond. **181**, 286.

Allweis C. and Magnes J. (1958b) J. Neurochem. **2**, 326.

Barker S.B. and Summerson W.H. (1941) J. biol. Chem. **138**, 535.

Barbato L. and Barbato I.M. (1964) J. Neurochem. **11**, 745.

Barkei A. and Allweis C (1966) J. Neurochem. **13**, 23.

Barkulis S.S., Geiger A., Kawakita Y. and Aguilar V. (1960) J. Neurochem. **5**, 339.

Beloff-Chain A., Cantazaro R., Chain E.B., Massi I. and Pocchiari F.: (1955) Proc. roy. Soc. B. **144**, 22.

Berl S., Lajtha A. and Waelsch H. (1961) J. Neurochem. **7**, 186.

Carter S.H. and Stone W.E. (1961) J. Neurochem. **7**, 16.

Conway E.G. (1957) 石坂音治訳，南江堂.

Cremer L.E. (1964) J. Neurochem. **11**, 165.

Dravid A.R. and Jilek L. (1965) J. Neurochem. **12**, 837.

枝松一安 (1967) 精神経誌. **69**, 1260.

Gaitonde M.K., Dahl D.R. and Elliott K.A.C. (1965) Biochem. J. **94**, 345.

Gaitonde M.K., Richter D. and Vrba R. (1962) Biochem. J. **84**, 105.

Geiger A. (1956) J. Neurochem. **1**, 119.

Geiger A. (1958) Physiol. Rev. **38**, 1.

Geiger A. (1962) Neural Physiopathology (ed. Grenell R.G.), p. 310, Harper & Row, New York.

Geiger A., Gombos G. and Otsuki S. (1961) C.I.O.M.S. Symposium on the Selective Vulnerability of the CNS to Hypoxemia, Baden.

Geiger A., Gombos G., Otsuki S., Aguilar V., Gethelf B., Scruggs W. and Whitney G. (1962) Intern. J. Neuropharmacol. **1**, 283.

Geiger A., Kawakita Y. and Barkulis S.S. (1960) J. Neurochem. **5**, 323.

Geiger A. and Mcgnes J. (1947) Amer. J. Physiol. **149**, 517.

Geiger A. and Yamasaki S. (1956) J. Neurochem. **1**, 93.

Gleichmann U., Ingvar D.H., Lassen N.A., Lübbers D.W., Siesjö B.K. and Thews G. (1962) Acta physiol. scand. **55**, 82.

Gombos G., Geiger A. and Otsuki S. (1963) J. Neurochem. **10**, 405.

Gombos G., Otsuki S., Seruggs W., Whitney G., Schmolinske A. and Geiger A. (1963) Fed. Proc. **22**, 633.

Hall T.C. and Cocking E.C. (1965) Biochem. J. **96**, 626.

Horowicz P. and Larrabee M.G. (1962) J. Neurochem. **9**, 1.

Hotta S.S. (1962) J. Neurochem. **9**, 43.

池田久男 (1961) 精神経誌. **63**, 611.

King L.J., Lowry O.H., Passonneau J.V. and Venson V. (1967) J. Neurochem. **14**, 599.

Koeppe R.E. and Hahn C.H. (1962) J. biol. Chem. **237**, 1026.

Kurahasi K. (1964) J. Chromatogr. **13**, 278.

Magnes J., Allweis C. and Abeles M. (1967) J. Neurochem. **14**, 859.

森光淳介 (1968) 精神経誌. 投稿中.

中島良彦 (1967) 神経化学. **6**, 11.

Natelson S. (1951) Amer. J. Clin. Path. **21**, 1153.

野口鉄也，塚田裕三 (1966) 神経研究進歩. **10**, 185.

O'Neal R.M. and Koeppe R.E. (1966) J. Neurochem. **13**, 835.

O'Neal R.M., Koeppe R.E. and Williams E.I. (1966) Biochem. J. **101**, 591.

Otsuki S. and Geiger A. (1963) J. Neurochem. **10**, 415.

大月三郎，山田高春，引地明義，修多羅正道，森光淳介，中島良彦. (1965) 脳神経 **17**, 635.

大月三郎，渡辺昌祐，枝松一安，中島良彦，帆秋孝幸，二宮淳明，光信克甫，三宮崇典，奥村二吉 (1967) 医学と生物学. **75**, 12.

Roberts R.B., Flexner J.B. and Flexner L.B.

(1959) J. Neurochem. 4, 78.
ROSEN H. (1957) Arch. Biochem. 67, 10.
SACKS W. (1961) J. Appl. Physiol. **16**, 175.
SAIFER A. and GERSTENFELD S. (1958) J. Lab. Clin. Med. **51**, 448.
SOMOGYI M. (1945) J. biol. Chem. **160**, 69.
VRBA R., GAITONDE M.K. and RICHTER D. (1962) J. Neurochem. **9**, 465.
WAELSCH H. (1957) Metabolism of the Nervous System: (ed. Richer D.) p. 431, Pergamon, New York.
渡辺昌祐 (1961) 精神経誌. **63**, 1146.
WATANABE S., GOMBOS G., KURAHASI K. and ABOOD L.G. (1965) unpublished work.
WINZLER R.J., MOLDAVE K., RAFAELSON M.E. and PEARSON H.E. (1952) J. biol. Chem. **199**, 485.
山田高春 (1962) 精神経誌. **64**, 742.

神経化学 Vol. 7, No. 2, pp. 73～84, 1968

[学会抄録]

第10回日本神経化学会口演要旨 II

一 般 演 題 (1～17)

昭和42年10月5日，6日
於：東京・神田・日仏会館ホール

1. TCA サイクル中間物質のガスクロマトグラフィーによる分離

永山素男・成瀬 浩
(国立精神衛生研)
宮本侃治 (国立武蔵療養所)

TCA サイクルの主要な中間物質，即ち citric acid, α-ketoglutaric acid, succinic acid, malic acid の比放射能の測定，分析時間の短縮を目指してガスクロマトグラフィーによる分離を試みた。

citric acid, isocitric acid, α-ketoglutaric acid, succinic acid, fumaric acid, malic acid, oxalacetic acid, pyruvic acid, N-acetylaspartic acid, glucose-6-phosphate をN, O-bis-trimethyt-acetamide を用いてトリチルシリル化し，5% SE-52 カラムで昇温分析して，おのおのを単一のピークとして分離した。

マウス脳 200 mg に相当する succinic acid, fumaric acid, malic acid, α-ketoglutaric acid, citric acid を含む微量試量を，上記の方法で分離させることができた。この方法は，α-ケト酸のピークが分裂せず，また反応による沈澱を生じないこと等の点で従来のヘキサメチルジシラザンによるトリメチルシリル化よりも，微量試料の分離にはるかに適している。

現在，生体脳試料中の TCA サイクル中間物質の分離を検討中であり，この分離が完成すれば，ガスクロマトグラフ用放射能検出器の使用，またはピークの分取により，放射能の測定が可能であり，比放射能を算出することができる。

質問：柿本 泰男 (阪大・医・高次研)

1) 得られたクロマトグラムは予想以上に良く試料の調製がすぐれているためと思う。Dowex 1, Dowex 50 による前処理による物質の回収率は?

2) 調製中に TCA member で分解するものはないか?

3) N-アセチルアスパラギン酸の回収率は低いように思うが。

4) 他の組織や体液への応用の可能性は?

いずれにしても今度大いに利用価値のある方法であると思うし，この方法の早急な完成を期待したい。

答え：1) Dowex 1 はすでに確立された方法を用いたものであり，Dowex 1, Dowex 50 いずれも，アイソトープを用いて90数% 以上の回収率を確認している。

2) これまで使っている方法であり，TCA member の分解は考えられない。

3) クロマトグラム上の NAA ピークは，確かに少ない。これは試料濃縮時にメタノールを用いているためと考えられる。

4) 他の組織については試みていないが，応用の可能性があると考えられるので，今後検討したい。

質問：中嶋 照夫 (阪大・医・高次研)

1) BSA による Silylation 法は非常に簡単な，しかも効果的な方法ですが，試薬が吸湿性であるため，出来た試料が粘ばつきしばしば注入が困難になる場合があります。その点をどのように解決されていますか。

2) また上記のような欠点があるため，定量法として用いる場合に，しばしば再現性をかくことがあります。この点をどのようにお考えでしょうか。

答え：1) われわれの試料の範囲では，BSA の純度がよく溶媒の脱水を充分にした場合には，試料の注入に困難な程のねばつきはありませんでした。

2) われわれは，まだ定量法としては用いておりませんが，定量に用いる際には内部標準法を用いる必要があると思います。

2. 脳セロトニンの生合成に関する研究—特にトリプトファン水酸化酵素の新しい assay 方法について

市山 新・中村重信
西塚泰美・早石 修
(京大・医・医化)

脳における serotonin 合成系，特に tryptophan hy-

droxylase 活性を簡単且つ正確に測定する為に L-tryptophan [indolyl (alanine-1,2,3-^{14}C)] を酵素的に合成し，$^{14}CO_2$ の生成で assay する方法を考案した。その原理は aromatic L-amino acid decarboxylase の tryptophan に対する Km が 5-hydroxytryptophan に対するそれよりも遙かに高く，従って適当な条件下では発生する $^{14}CO_2$ の量は生成した serotonin 量に等しいという事実に基く。モルモットの脳幹部より調整した顆粒酵素標品を用いて検討した結果，この assay に適した基質濃度は 2.7×10^{-6}M でありこの濃度では $^{14}CO_2$ の生成量は事実上 serotonin 合成をあらわすが，4×10^{-5}M の基質を用いると tryptophan自身も decarboxylase の基質になる為に，僅かではあるが tryptamine 生成に基く $^{14}CO_2$ も生成する事が明らかになった。この assay 方法は簡便且つ鋭敏（1 $\mu\mu$ mole の serotonin が生成すると 20 cpm の $^{14}CO_2$ 生成が認められる）である上に非酵素的脱炭酸が少く（0.1% 以下），background の値が低い事を必須とする tryptophan hydroxylase の assay として唯一の信頼性のある方法であろうと思われる。反応には酸素が絶対的必要であり，また 2-amino-4-hydroxy-7,8-dimethyl-5, 6, 7, 8-tetrahydropteridine と TPNH (DPNH) の両方が要求されることから phenylalanine hydroxylase の場合と類似した monooxygenase type の反応機構が推定される。水酸化酵素の分布は脳幹部，特に間脳，四丘体に多くまた細胞分画では主として細経末端顆粒に存在する様であるが脱炭酸酵素は上清と顆粒部分の両方に存在する。phenylalanine, 5-hydroxytryptophan 等による阻害形式およびその機構も合せて報告する予定である。

質問： 永津 俊治（愛知学院大・歯・生化）

1) Fe^{2+} の要求性は可溶化した tryptophan hydroxylase で認められるでしょうか。

2) 5-hydroxytryptophan の阻害を発見されましたが，阻害の kinetics はどうでしょうか。最近 NIH で Dr. M. Levitt は 5-hydroxy-α-methyl-tryptophan が tyrosine hydroxylase(副腎) の強力な阻害剤であり，その kinetics は補酵素 DM PH_4 に対して単純な competitive, あるいは *non-competitive* の型ではないことを報告している点と考えあわせ，報告された阻害は興味深いと思います。

答え： 1) Fe^{++} の effect について。未だ酵素が crude ですので判りません。今後精製した酵素で検討してみたいと思います。

2) 5-hydroxytryptophan の inhibition について。inhibition の形式に関して未だ充分検討していません。5-hydroxytrytryptophan の阻害に関しては私共も常に興味を持っておりまして近々実験を行う予定にしています。

質問： 嶋津 孝（阪大・解剖）

この方法の至適基質濃度は 10^{-6}M で，基質濃度を上げると $^{14}CO_2$ の生成と serotonin 形成とが，等モル比にならないとのことです。一方，この酵素の基質に対する Km 値は 10^{-5}M のオーダーとしますと Km 値よりも低い基質濃度を使用しなくてはならないことになり，V_{max} の状態で酵素活性を測定することが難しいように思いますが。

答え： Km より低い基質濃度で測定いたしますが脳の水酸化酵素活性は非常に低く serotonin の生成は加えた tryptophan の数 % にしか過ぎません。従って反応の time course の直線性には左程影響しないと思います。V_{max} を得たい時には 3～4 点の基質濃度で反応を行い逆数プロットを extrapolate しています。

3. いわゆる faster running glycolipid について

玉井 洋一（東京医歯大・精神）
武富 保（東大・医科研・化学）
山川 民夫（東大・医・生化）

最近の chromatograpic technique のめざましい進歩により，動物組織を構成する脂質成分の微量分画をも検出することが可能になって来た。我々は第39回日本生化学会総会に於て，ウシ脳白質から分離された，cerebroside より極性の低い糖脂質について分析を行った結果の一部を報告したが，その後更に四つの faster running glycolipids についての分析をすすめた結果，Kachetkov, Norton, Dittmer らと異なる結果を得たので報告する。各未知分画は Folch 法に従い fluff layer から得られた。continuous gradient elution method により四つの単一物質に分離された。IR スペクトルで各分画はエステル結合を持つ sphingoglycolipid であることがわかった。アルカリ処理によってエステル結合の脂肪酸はパルミチン酸，ステアリン酸を主たる構成脂酸とすることがわかった。構成糖の分析は，ガスクロマトグラフィーにより galactose のみであった。アルカリで処理された各分画は，薄層クロマトグラフィーで cerebroside に一致する Rf 値を示した。中でも Fr. I は kerasine に，Fr. II, III, IV, は phrenosine に一致した。更にガスクロマトグラフィーを応用して sphingosine を検出し，アミド結合の脂肪酸をも検討した。また，エステル，グリセロール，アルデヒドの分析並に permethylation の technique を用いて各未知物質の化学構造式を推定した。我々の実験結果は微量糖脂質成分に関するこれまでの研究報

告を否定するものであった。

質問：金　沢　　彰（阪大・神経科）

1) TLC における糖脂質の発色法はどのような方法で，脂質のどの部分と反応するのか。

2) TLC のスライドで，原材料にくらべ水解物が多いがどうか。

3) 原材料に何か混在物があると考えられないか。

答え：1) アンスロン試薬を TLC plate に spray し加熱すると糖脂質のヘキソース部分と反応して赤紫色を呈する。

2) 発色の程度が一定でないのは各画分を定量的に spot していないからである。

3) 抽出，精製の method 上から混在物は考えられない。

質問：柿本　泰男（阪大・高次研）

1) 脳内の他の lipid との相対的な量は大体どれほどか?

2) NORTON らの成積と異るのは何故か?

答え：1) 四つの画分を合わせて粗セレブロシド画分の約 1～2% である。

2) NORTON らと我々は抽出法も違い，別の画分を処理しているので当然得られた物質も違うわけである。

4. 脳 acetylcholine の脂質化学的研究

融　　道　男・長　尾　佳　子
中　根　満　喜　子（東京医歯大・精神）

従来の方法では，脂質様物質に結合している脳 acetylcholine (Ach) の遊離は不充分であったが，これに代わるギ酸–acetone 抽出法を用いることによって脳 Ach を脂質化学的に研究することが可能になった。

（1）脂質に富む脳白質の Ach 量をこの抽出法を用いて再検討した。結果はラットでは 7.71±0.99 mμM/g，モルモットでは 6.82±1.15 mμM/g であり，同時に適用された他の抽出法によるよりも有意に高い値であったが，文献値から著しくへだたるものではなかった。

（2）脳を chloroform : methanol (2 : 1) で抽出し，ギ酸–acetone 液を用いてその上層，下層および fluff の Ach の分布をしらべ，その各層についてケイ酸 column chromatography によって脂質を分画し，その各分画成分について Ach を遊出させその活性をしらべ，Ach の結合している脂質を解明することを試みている。上層部分についてはとくに ganglioside を予想して検討を行なったが，Ach はどの分画からも得られなかった。むしろ下層および fluff から高い Ach 活性を得ており，とくに fluff の分画から大量の Ach が回収されているので更に検索をすすめている。

質問：松田　友宏（阪大・医・第一薬理）

WHITTAKER らによれば nerve ending fraction の bound Ach は，pH を 4.0 にし，100°，10 分間 boil することにより，完全に遊離されるものとしております。先生の方法で nerve ending fraction から Ach を抽出された場合，Ach の recovery にどの位の差がありましたか。

答え：CROSSLAND の酸性エタノール法の場合最終 pH は 4.5 であり，ギ酸アセトン法では pH 2.7～3.0 で，前者で遊離されない Ach を後者で遊離することが出来，活性が 116% になるという実験は報告したが，pH 4 については特に行なっていない。

質問：柿本　泰男（阪大・高次研）

御発表の中に bound Ach という言葉を用いておられるが，たとえば synaptic vesicle に局在するという意味で一般に用いられている bound Ach とまぎらわしい。また細胞内で bound ないしは inactive の形で存在するメカニズムの解明に本研究はどのような関係があるか。

答え：形態学的に結合型 Ach を決定する研究が一方で行なわれているが，Ach の遊離や移送にどのような脂質が関与しているかを研究することも必要であると考える。WHITTAKER の研究とわれわれのアプローチを結びつける実験として，synaptic vesicle をとり出してから脂質を分析することを計画している。

このような実験を行なったもう一つの根拠は，最近 BURTON が ganglioside を Ach の結合脂質として提出しているので，これをこの方法で確かめてみることである。

質問：谷口　和覧（阪大・高次研）

既知量の Ach を脳組織に加えて報告なさった方法で抽出すると，回収率はどれ位ですか。また他の方法と比較してどれ位ちがいますか。

答え：ギ酸–アセトン法の回収率は 97.9±9.7% で従来の法方酸性アルコール法の回収率 72.8±10.7% また 10% TCA 法の 54.4±9.5% よりまさっています。この回収率はそれぞれの方法を用いた時のラット全脳の Ach の値，ギ酸–アセトン法：31.2，酸性アルコール法：21.6，10% TCA 法：15.1 mμM/g に対応しています。

5. 神経成長促進因子（NGF）の生化学的研究

野　村　純　一（京大・医・精神）
E. SHOOTER, S. VARON
(Stanford Univ)

NGF は特に雄マウス顎下腺に豊富に含まれる蛋白で，胎生の一時期において知覚および交感神経節細胞の成長を促進する因子であり，主として，LEVI-MONTALCINI,

COHEN 等によって研究されてきた。我々は Sephadex, DEAE cellulose を用いて NGF を精製し，従来の報告とは異った分子量約 140,000 の蛋白を得た。精製度は約 40 倍で，収量は 80% であり，種々の物理化学的方法によって単一の蛋白であることが証明された。本蛋白は酸性(例えば pH 3.8)またはアルカリ性(例えば pH 10.3)の pH では分子量約 30,000 の subunit に解離し活性も 1/4 に低下するが，この解離は可逆的であり中性の pH では再び高分子量，高活性の NGF を形成する。酸性 CM cellulose を用いて NGF を acidic, neutral, basic の三種の subunit に分離することが出来る。これらの subunit はいずれも分子量約 30,000 であるが，電荷を異にし，電気泳動によってはっきりと区別される。basic subunit のみが低い活性をもち，他の subunit には全く活性がない。これら三種の subunit を混合して中性の buffer に透析すると再結合が起り，もとの高分子量の NGF を形成すると同時に，高い活性を回復する。すなわち NGF 蛋白は三種の subunit から成り，一種の subunit のみが生物学的活性を有し，他の二種の subunit は調節的役割を演じているものと思われる。

質問：早　石　　修（京大・医・医化）

1) subunit に分画される前の比活性，分画されたあとの basic な subunit の比活性は MONTALCINI や S. COHEN が今まで報告している標品の比活性と比較してどちらに近いものですか。

2) subunit の reconstruction は 1:1:1 の比で起るのですか，その比を変えることによって活性が変りますか。

答え：1) NGF の比活性は COHEN 等の製品の比活性とほぼ同様です。basic subunit は活性も蛋白量も非常に低いので，見かけ上の比活性はやはりほぼ同様になります。COHEN 等の製品がはっきり subunit であったという確証はありませんが，遅らく一部解離した中間段階のものを得ていたものと思われます。

1) reconstruction の比率は 1:1:1 乃至それに極めて近いものと思われますが，まだ正確な結論が得られていません。

質問：野口　鉄也（慶大・医・生理）

1) sucrose gradient centrifugation で pH を酸性あるいは塩基性にしてそれから中性にもどした時の活性と CM セルロースで得られた3分画の混合物質の活性とを比較してみると前者で極めて高いのは何故か? subunit の混合比の違いによるものか?

2) アクリルアミドゲルの濃度（%）は?

答え：1) i) subunits の再結合実験を行う場合，正確な構成比がまだ不明な点，ii) 再結合実験は単なる透析実験に比べて操作が複雑になるため NGF の失活を来し易い点，iii) CM カラムによる分離の際多少の蛋白変性を来している可能性のある点等から，このような結果を来したものと思われます。

2) 5% 乃至 7% を用いております。

質問：永津　俊治（愛知学院大・歯・生化）

1) NGF は顎下腺に特有に存在するものでしょうか，他の臓器，例えば耳下腺，にも存在する報告はありますか。

2) NGF は雄雌で性差がありますか。

3) NGF の細胞内分布の報告はありますか。

答え：1) NGF はそれに反応する組織内には広く極めて微量に存在し，その組織の保持に必要なのではないかという考え方が強くなっております。

2) 雄に多く，雌に男性ホルモンを投与すると増加します。

3) 例えば放射性 NGF を用いて，今後検討が続けられるものと思いますが，未だ全く不明です。

質問：島津　孝（阪大・解剖）

1) 酸性あるいはアルカリ性側での解離よりも，中性域での解離，会合が生理的に重要だと思います。中性域での解離，結合の条件をお調べになっていませんか。例えば Ca^{++} などの金属イオンの関与はありませんか。

2) 三つの subunits のそれぞれをアクリルアミドの電気泳動を行うと更に数ケ band に分れるとのことですが，これはそれぞれの subunit が更に小さな分子に解離すると考えておられるか。

答え：1) DEAE セルロースのようなイオン交換樹脂を用いると，特に流速の遅い場合，中性域でも NGF の解離が多少起るということは判っておりますが，それ以上の検索はまだ行っておりません。生理的意味から，この問題が非常に重要であることは同意見で，今後興味のある課題と思います。

2) subunits はアクリラマイド電気泳動で数個の band を示すことから，更に小さな分子に解離しうる可能性は充分にあり，この点尚検討が続けられております。

質問：中沢　恒幸（慶大・神経）

野村さんの NGF を *in vivo* に投与されて節細胞が大きくなるか?

それは COHEN, LEVI-MONTALCINI らの crude NGF と比較してどうか?

答え：現在の所，この NGF の in vivo での生物学的作用は COHEN 等の NGF と全く同一であります。

6. 牛脳蛋白の免疫化学的研究

伊藤　斉，三浦貞則
（慶大・医・神経）

牛脳から pH 4.8 acetate buffer によって抽出し，硫安の沈澱濃縮で得られた蛋白分画について免疫化学的研究がなされた。

この分画は核酸成分を殆んど含まない蛋白（蛋白収量は homogenate の 2.9%）であり，clear な水溶液として得られる。FREUND's complete adjuvant とともに家兎に注射すると，約3ケ月で antibody titer 1024 倍の抗血清を得ることができた。

OUCHTERLONY 法あるいはその変法で沈降反応を行うと数多くの沈降線が出現するが，牛血清および肝と腎の同じ抽出操作による蛋白分画で吸収した抗血清を用いると，脳に特異的な明瞭な沈降線を認めることができる。また，免疫電気泳動法でも，吸収前抗血清では 10 本の沈降線の出現をみるが，吸収操作後には血清 β-globulin と近似の易動度を有する脳特異沈降線を確認することができた。（吸収後の titer は 64 倍）

なお，人脳や白鼠脳との沈降反応の結果から，この蛋白抗原は臓特異性とともに種特異性をも有することが認められた。

質問：佐　武　明（新潟大・脳研）

MAC PHERSON 等が J. Immunol. (1966) に発表している species specific 以外のもう1つの tissue specific antigen が演者のものに見られぬのは抽出法の違いによるのか?

答え：伊藤　斉（慶大・医・神経）

tissue specific antigen (non species specific) のみられないのは抽出法の違いによるものかも知れない。

質問：野口　鉄也（慶大・医・生理）

1) この抽出方法を用いての利点

2) 血液に対する抗体が多く作られすぎていて MAC PHARSON の得た成績に比べて脳の蛋白に対する抗体が少いようであるが，これは抽出の時点での問題か? 抗体作製上の問題か?

答え：三浦　貞則（慶大・医・神経）

1) 抄録にも書いたように，抗原性の高い蛋白を clear な水溶液として得られる利点がある。

2) この場合免疫沈降線の本数の多い少いを問題にしていない。電気泳動で陽極側に早く移動する蛋白は抽出されていない。抗体作製には関係がないものと思われる。

7. 異った脳の部位から抽出した DNA の性状と核の分布

赤堘　豊，森　浩一
山上　栄（阪立大・医・神経）

1) モルモット脳の異った部位より核を調整し，その投影面積より大きさの分布を検討すると，大脳白質，視床，橋-延髄では 20～30 μ^2 の面積をもつ核が最も多く，灰白質では 40 μ^2 以上，小脳では 30～40 μ^2 のものが多かった。

2) 各部位から精製した DNA の化学分析値は，ほぼ他の組織で報告された値と一致した。

3) メチル化アルブミンカラムによる溶出パタンではいずれの部位の DNA も 0.675 M の食塩濃度において最も多く溶出されることが示された。

4) グリコール，酸-加熱，加熱，尿素で変性処理を加え hyperchromic effect を検討したところ，前二者では高く，後二者では低い効果が示された。

5) DNA の GC 含量は約 40% であって，部位による差は認められなかった。

以上の結果から，脳の DNA は部位によって異る生物物理学的性状を示さないものと考える。

質問：金沢　彰（阪大・神経科）

1) DNA の性状と核の分布のむすびつきがよく理解できない。

2) 脳の各部位で DNA 量が多いのはどこで，少ないのはどこですか，小脳に DNA が多いということですが，それと小脳の核が大きいこととの関連は?

3) 脳の DNA 量が解剖学的部位によって異なるという事実から，各部位で DNA の物理化学的性状が異なるというアイデアにはつながりにくいと思うがどうか。

答え：この実験を行った目的は，今まで脳の DNA の standard value がなかったので，脳のどの部位を用いれば最も収量が高く，しかも純化された DNA が得られるかを検討する為に行ったもので，時に核の大きさと DNA の性状とを比較することを主目的としたのではありません。

脳の各部位の中で DNA の含量の最も高いのは小脳であり，また最も少ないのは灰白質ですが，他の部位よりやや少い程度である。

質問：塚田　裕三（慶大・医・生理）

核の大きさと DNA 含量との間に関係があるのか。

答え：われわれの data では小脳において DNA の含量が最も多く，また 30～40 μ^2 の核を多く含むが，他の部位では核の大きさと DNA 含量との間に相関関係は認められなかった。従ってこれをもって核の大きさと DNA の含量とに特に関係があるとは思われない。

質問：黒川　正則（東大・脳研）

1) 核の大きさの部位差を論ずる場合に，分離核で測

定することに問題がないか？　組織標本を用いて測定する分が正確だと思うが。

2)　部位的に DNA 濃度にちがいがあるとすれば，まず各部位の細胞密度の差異を検討してもよいと思うが。

答え： 1)　われわれの核の大きさの分布における部位的な差は分離核の上で行った結果である。この結果は組織学的に得られた核の大きさとも大差がない。したがって核の大きさの分布はある程度生理的状態を反映しているものと考えられる。

2)　その点については現在討中である。

8. γ-アミノ酪酸トランスアミナーゼについて

谷口和覧・柿本泰男
佐野　勇（阪大・医・高次研）

γ-アミノ酪酸をはじめとする種々の ω-アミノ酸のアミノ基転移反応について従来多くの記載があるが，それぞれの研究で異った臓器，異った酵素調製法，異った基質が用いられ，しかも酵素名も統一されていない。脳のγ-アミノ酪酸トランスアミナーゼは他の 2,3 の ω-アミノ酸に作用することが知られているし，われわれが最近ブタ腎から精製した β-アミノイソ酪酸トランスアミナーゼも ω-アミノ酸に広い基質特異性を示した。そこでいくつかの ω-アミノ酸-α-ケトグルタール酸トランスアミナーゼは単一のものではないかと考え以下の結果を得た。

1)　γ-アミノ酪酸トランスアミナーゼ活性は脳，肝，腎につよく腸，心筋，横紋筋でよわい。2)　脳，肝，腎のアセトン末を材料として4段階の精製を行ったが，いづれの材料を用いても比活性の上昇の割合はあまり変らず，また γ-アミノ酪酸，β-アラニンおよび L-β-アミノイソ酪酸についての活性はほぼ平行し分離されなかった。3)　部分精製酵素は数種の ω-アミノ酸に活性を示し，またヒドロキシルアミン，モノヨード酢酸，ジエチルチオカルバメイトで阻害され，これらの性質は各臓器で類似していた。4)　いづれの組織から得た標本も精製とともに不安定となり，蛋白量，基質量による活性変化は酵素蛋白の性状の変化，未知の因子の介在を想定させるものであった。これらの結果から ω-アミノ酸のアミノ基転移はおそらく一種類の酵素で触媒されると考えられる。

質問： 村越　善衛（日大・薬学）

homo-carnosine の如き dipeptide の effect をみる際 mercapto-ethanol を添加したか。若し加えていないとすると allosteric effect を考える前に重金属の阻害を考慮された方がよいのではないか。

答え： メルカプトエタノール添加ははぶいています。10^{-6}M の Cu^{++} に阻言作用はみられませんが，他の金属についても検討するつもりです。これまでの結果から直ちに allosteric effect を結論することは控えております。

質問： 市山　新（京大・医・医化学）

ATP の効果に対する substrate 濃度の影響はどうですか。

答え： まだしらべておりません。

追加： 柿本　泰男（阪大・医・高次研）

本酵素の活性は神経化学上の興味からよく測定されているがアミノ化合物やまたクレオチドの存在で強く影響されるので，本酵素活性を測定する場合，種々の考慮を払う必要がある。

質問： 川合　仁（京大・医・精神）

脳の transaminase は肝腎のそれに比べて Km が高いようですが，どういうことでしょうか。

答え： LINEWEAVER-BUIKE analysis がうまくいきませんでしたので，確かなことは申せませんがもう少し検討してみます。がお説の通り脳酵素は腎酵素とちがうようです。意味はまだ判りません。

9. 白鼠脳の芳香族アミノ酸トランスアミナーゼの細胞内分布

仙波恒雄（千大・医・脳機能研）
MORTON CIVEN (Radioisotope Service, U.S. Veterans Administration Hospital, Long Beach, Calif. and Dept. of Biochemistry, U.S.C., Los Angeles, Calif.)

rat 脳を用いて，aromatic amino acid transaminase (phenylalanine-, tyrosine-, DOPA-, 5-HTP-, tryptophan-transaminase) の subcellular distribution を研究し，次の結果をえた。(1) total activity では，tyrosine transaminase が最も活性が高い。(2) 各 transaminase の 60～80% は，crude mitochondrial 分画に存在する。(3) tyrosine-transaminase と DOPA-transaminase は，各分画にて，非常に類似の分布を示した。(4) phenylalanine-transaminase 活性は，可溶性分画に高い。(5) tryptophan-transaminase と 5-HTP-transaminase は，完全に，M_2 分画 (synaptic vesicles) で分離できた。かつ，この分画において，5-HTP-transaminase 活性が最も高い。(6) subcellular distribution よりみれば，rat 脳には，いわゆる，3つの異った aromatic amino acid transaminase (transaminase 1) よりも多くの transaminase をふくむことが想定できる。(7) DOPA-transaminase は，dopamine, 5-HT により阻害される。しか

し，これら両アミンは，5-HTP-transaminase を阻害しない。また，両酵素は，NSD 1024 で強力に阻害される。(8) catecholamine, indole amine の代謝経路における transamination の役割について考察を行った。

質問： 柿本 泰男（阪大・医・高次研）

1) DHPPA → DOPA の経路がカテコラミン合成の1経路として提案されたが，DOPA transaminase は

DOPA → DHPA → ホモプトロカテキン酸
　　　　↘ホモバニリン酸

の disposal pathway として意義がある。その逆反応を仮定しても DHPPA の precursor が DOPA で，あれば生合成経過として無意味であろう。*p*-HOPPA → DHPPA の経路を予想しているのか？ 永津さんの御意見も伺いたい。

2) 活性測定値に対する blank の相対値は？

答え： 1) DHPDA の precursor として DOPA を考えているだけではなく *p*-HPPA からの経路も考えている。但し *in vivo* ではなんともいえない。

2) 各酵素により blank の値は異る。最も高い blank を示すのは，DOPA-transaminase であり，相対値は約 60% である。次に 5 HTP-transaminase は 20%，その他は極めて低い。

追加： 永津 俊治（愛知学院大・歯・生化）

tyrosine → PHPPA → DHPPA → DOPA → dopamine → NE の catecholamine 生合成経路の可能性を示されましたが，*in vivo* での主要な catecholamine 生合成経路は tyrosine hydroxylase による。

tyrosine → DOPA → dopamine → NE の系路と考えております。 tyrosine hydroxylase を阻害しますと，*in vivo* で catecholamine は減少します。

答え： お説の pathway を否定するものではありませんが，他の pathway として Gey らの示した PHPPA → DHPPA → DOPA → DA の結果と私が測定した DOPA transaminase 活性値の高さから，少くとも *in vitro* では，上記の経路を想定してもよいと考えた。

質問： 谷口 和寛（阪大・高次研）

1) 動物脳内に芳香族アミノ酸からのピルビン酸は存在しますか。もし濃度が極めて低ければ，アミンにより近いアミノ酸が存在する以上アミン生合成での意味が小さくなりますが。

2) 御報告のトランスアミナーゼは私の以前の実験では，ふつうの状態では一方的に進行し酸形成にむかい，もとのアミノ酸の生合成に重要とは考えられなかった。

答え： 1) 芳香族アミノ酸からのピルビン酸 たとえば DHPP や 5-hydroxyindole pyruvic acid は極めて不安定で測定し難いので濃度はどれ位かわかっていないが *in vitro* において transaminase 活性が可成高いことは云いうる。

2) paper chromatography で DHPP や 5-hydroxy indole pyruvic acid は測定しえなかった。

質問： 永井 和男（阪大・医）

1) Robertis 以外の細分画法は行ったことがあるか。また Robertis 法に於ける osmotic shock での条件は？

2) またこの分画操作中に Ca^{++} 10 μM を入れた影響，理由についてはどうか。

答え： 1) De Robertis 以外の細分画法は，試みていない。osmotic shock の条件は 0.32 M sucrose を water を含む $CaCl_2$ にて 0.032 M にして re-homogenetion し，5分後，Fig. I に示した条件で遠沈，分離した。

2) 分画操作中 0.32 M sucrose + 10 μM $CaCl_2$ を用いた，最終的にえられた pellet を 0.02 M phosphate buffer 浮遊させて，酵素活性測定にもちいたので $CaCl_2$ の濃度は極めて，低濃度であり活性値測定には問題にならないと思います。

質問： 野口 鉄也（慶大・医・生理）

1) Phe-transaminase のアミノ基受容体として何故 pyruvate を用いたか？ 脳では Phe-α kg·transaminase の方が Phe-pyruvate-transaminase より倍以上高いものである。

2) アミノ基受容体として pyruvate を使ったために他の transaminase と分布が異るようになるのではないか？

答え： 1) Lin, Pitt, Civen, Knox の方法に従った。肝と脳における amino acceptor のちがいは，Fonnum らの成績ではおっしゃる通りです。私の予備実験では，pyruvate の方が活性が高かったので用いたが再検討を要すると思う。

2. そのために分布の % がいちじるしく異るとは考えにくいと思いますが。

10. 演題取り消し

11. 冬眠動物脳に於けるリボ核酸代謝

佐 武 明・松 川 恵 子
宮 沢 登（新潟大・脳研）

冬眠動物に標識アミノ酸を投与すると，これは脳組織中のアミノ酸プールに活発に取り込まれるにも拘らず脳蛋白質への取り込みは著しく低下している。この蛋白質合成低下の機作を知る為に冬眠動物脳に於ける RNA 代謝の実験を行った。実験動物として蝙蝠を用いこれを冬眠群と人工覚醒群に分け，前者は全実験経過中，即ち断頭する迄冬眠状態に保ち後者は冬眠中のものを約 20°C の室温に於て覚醒せしめ以後断頭までこの温度で覚醒状態に保った。[6-C^{14}]-オロチン酸投与は頭蓋腔内に行い冬

眠群では睡眠中に覚醒群では覚醒後1時間で行った。RNA の抽出は SDS-フェノールで室温高温両温にて抽出し，4～20% 蔗糖密度勾配遠心法で分画し E 260 mμ と放射活性について分析し次の結果を得た。

1) 人工覚醒脳に於ては C^{14}-オロチン酸投与後既に 30 分に於て RNA はかなりの標識を示し遠心図形に於て 28 S よりS値の高い所に標識の山を示した。これは所謂 rapidly labeled RNA の合成に相当する。5時間後に於ては 28 S, 18 S 並びに 4 S RNA の紫外吸収に一致した放射活性を示し遅くとも5時間までに三種の RNA が生合成されることを示した。

2) 冬眠脳では 30 分後の RNA 標識は著しく低く遠心図形上も peak を示さない。5時間後に覚醒 30 分のものに似た標識図形を示し，24時間後に於てもこの図形を保っていた。

3) オロチン酸からの遊離の uridine nucleotide pool の標識は冬眠脳 30 分に於て既に高い値を示した。

以上の結果から冬眠状態に於ては，頭蓋内腔に投与したオロチン酸の脳内への取り込みや uridine nucleotide pool への取り込みは抑制されておらず所謂 rapidly labeled RNA の代謝回転が抑制されていると考えられる。

質問：山上　栄（大阪市大・医・神経科）

1) RNA を調整する時に，RNase inhibitor として polyvinylsulfate を用いておられるが，これは bentonite とくらべて inhibitor としての作用はどうか?

2) 冬眠時における uridine pool size は覚醒時と等しいと考えていいか，また blood-brain-barrier へ C^{14}-uridine の penetration は両状態で等しいと考えていいか。

3) 冬眠5時間，24 時間にみとめられる高分子の RNA (uridine を取り込んだ specific activity の高) は rapidly labelled RNA と呼んでいいかどうか，またこの RNA は *m*-RNA と考えていいか。

答え：1) 両 inhibitor を正確に比較してみたことはありません。

2) 冬眠から覚醒まで時間単位の経過ですので，所謂 uridine pool の大きさが変化はしておらぬと考えますが否定は出来ませんし，また orotic acid に対する barrier の変化する可能性もありましょう。かかることを考えて相対比放射能を計出した訳です。

3) 所謂 rapidly labeled RNA と考えます。*m*-RNA と preribosomal RNA の両者を含むと考えます。

質問：川合　仁（京大・医・精神）

1) chlorpromazine を注射した場合　冬眠時と同じ現象が見られないか。

2) この現象が，冬眠による体温低下に基づいている可能性はないか。

答え：1) 実験しておりません。

2) 可能性は否定出来ません。

質問：塚田　裕三（慶大・医・生理）

1) 人工覚醒させる条件をお教え下さい。

2) 肝でおやりになったことがあるか?　核酸代謝の変化は単に温度低下（低体温）ということで全身的に起っている可能性はないか?

答え：1) 室温を上昇せしめ (ca 20°C) precursor の注入は覚醒後1時間で行った。

2) 肝は見ておらぬ。脳に見られた変化が低温のみでおきたかも知れぬという可能性は現在の結果からは否定出来ぬ。従って全身的に見られるやも知れない。

質問：島津　孝（阪大・医・解剖）

実験上の問題ですが，^{14}C-オロチン酸の RNA 中への取り込みを見た実験で，覚醒時には1匹当り 9.5 μc を注射している。これに対し，冬眠させた時には 5 μc を注射して両者を比較しているがその理由を知りたい。

答え：特に理由はない。*in vivo* で前駆物質を注入実験する場合高分子の分成（能）をその局所に到達し反応にあづかっている前駆物質の濃度を考慮に入れて相対比放射能として表現している。従って私共 9.5 μc の注入例でも相対比放射能値は reasonabl な値と思います。

12. 脳における NAD 重合反応と NAD ase 反応について

出口武夫・中沢欽哉
上田国寛・西塚泰美
早石　修（京大・医・医化）

肝細胞核で発見された NAD 重合反応（ADP-ribose 重合反応）は，肝臓以外の臓器にも分布し，特に脳細胞核では肝臓についで強い活性を示すので，脳組織における本酵素の分析を行った。本酵素は NAD からニコチン酸アミドを遊離するので，所謂 NAD ase 様式の反応と考えて良い。NADase が特に脳に強く，脳神経系において果す役割について種々の議論があったが，われわれは脳における NADase 重合反応を検討すると共に，NADase との性格の異同，両者の関連性について検討しているので報告する。

本酵素は細胞核にのみ局在し他の細胞画分には全く認められず，従来から知られている NADase がミクロゾーム画分に集中するのと対称的である。また細胞核内分布を検討したが，本酵素はクロマチンに強固に結合しているようである。本酵素が DNase により 100% 活性を失う事実は，本酵素の核酸代謝に対する関与を推定させる。これに対し，従来からの NADase 活性は DNase

によって影響されない。両酵素に対する種々の阻害剤の影響を調べたが，ニコチン酸アミドの阻害効果は重合反応に対して特に強いようであるが，本質的差異ではないと思われる。両酵素の基質特異性を調べることはこの両酵素の相関関係を知る手掛りになると考え，目下検討中である。また従来から NAD と核酸代謝の関連性が想像されているが，脳神経系におけるこれらの点を猶追究中である。

質問：石川　晋次（東大・医・脳研）

DNAase digestion による阻害について

1) DNase の reaction product は阻害しないか。

2) DNA 要求は他の polyanion でおきかえられないか。

3) DNA と enzyme から酵素活性を再構成できないか。

答え：1) DN ase の reaction product はこの重合反応を阻害しないようである。

2) NAD-pohymerase が DNA と単に構造的な意味で関係しているのか，あるいは機能的に密接な関連性があるかは現段階では不明である。

3) P. MANDEL は DNA と polymerase の reconstitution に成功しているようである。

質問：島津　孝（阪大・解剖）

1) poly ADP-ribose は *in vivo* から分離することが出来るか。もし可能ならば核1ケ当りの含有量はどれ位か。

2) NAD-polymerase の生理学的意義を知り度い。これと関連して，癌とか，再生肝あるいは胎児肝，脳などで，この酵素活性が高くなるとか，低くなるような事は見られないか。

答え：1) *in vivo* でこの polymer を検出してはいないが，MANDEL は phoshodiesterase で分解した産物である pseudo-ADP-ribose を *in vivo* の肝臓で見つけたとの事である。

2) 癌組織，切除肝などについて 2～3 試をしてみたが，現在までの所結論的なことは得られていない。

質問：黒川　正則（東大・脳研）

1) DNA あたりまたは核あたりでこのポリメラーゼ活性を表現すると，肝と脳でどうなるか。

2) ヒストン，ポリアミンがポリメラーゼ活性に影響するか。

3) Poly ADP-リボース の酵素的分解の産物は?

4) 発育的の細胞核において活性の変化があるか。

答え：1) DNA 当りの活性は脳については測定しているが，他の臓器については測定していない。

2) histone polyamin の影響については現在の所不明である。

3) 分解産物として種々の産物があるので，分解は一階段で止まることはないと思われる。

4) 発育過程での変化は，合成と分解の速度が関係するので，その解析には猶慎重でなければならないと考えいる。

13. 脳 Mitochondria の呼吸調節及び燐酸転換系におよぼす Mg イオンの影響

菅野　司・長井晋次
（和医大・生理）
岩本省司（和医大・神経）

先に脳 mitochondria (Mt) 呼吸調節におよぼす Mg イオンの影響から，adenylatekinase (Adk) および末同定の燐酸転換系が呼吸調節の二次的機構として存在することを提示した。然し当時の Mt は共軛性が劣っていたので，小沢氏法により共軛性の優れた Mt(succinate, 4 glutamate, 14·α-ketoglutarate·7 以上の呼吸調節能を示す）を得，改めてこの機構を再検討し次のような成績を得た。

(1) EDTA を含む反応系（2価陽イオンを chelate した系）では ADP により定型的な呼吸調節を行うが，これに Mg イオンを追加するときは各種の燐酸転換系が活性化し呼吸調節の複雑性を示す。

(2) この Mg イオンによる活性化は ATPase, hexokinase には関係しなかった。

(3) Mg イオンを補充した系で adenine nucleotide (AN), creatine (Cr), creatine-phosphate (Cr-P) の変化を呼吸調節に関連する代謝条件で分析した。

(4) 無酸素条件または燐酸化抑制条件では酸化的燐酸化反応を除外し得るので，燐酸転換を単純化することが出来た。その結果脳 Mt では Adk, creatine kinase (CrK) が呼吸調節の主要な二次的機構であることが分析された。

(5) Mg イオン濃度 0.1 mm から 8 mM 付近までは Mg イオンは呼吸速度 (State 3) を促進したがより高濃度では逆に抑制された。この促進および抑制は Mg イオン濃度の CrK におよぼす活性化および抑制と平行している。

質問：石川　晋次（東大・医・脳研）

1) 脳ミトコンドリアと肝ミトコンドリアで Mg^{++} の含有量に差があるか。

2) Mg^{++} 存在下の呼吸促進をミトコンドリア内の ADP 濃度だけで説明できるか。

答え：1) われわれは脳，肝 Mt(ミトコンドリア)の Mg^{++} 量は定量していない。

2) Mt 内の ADP/ATP 比で呼吸速度が調節されているといわれているが，その比の調節に Mg^{++} が関与することを報告したわけである。直接には terminal phosphorylation step の reactant の動的平衡状態により調節されるものと考えるが，その各 reactant に対し，2次的に燐酸転移系が調節をおよぼしていることを実験条件を変化させて観察したものである。

質問：小沢　和恵（京大・医・外科）

AdK, CrK などの燐酸化系の関与に対する考え方は，興味深く思う。以下の私達の実験成績をどの様に考えるべきか御意見をお聞きしたい。

1) Mg^{++} の NAD-linked substrate に対する特異的に促進する現象は，DNP が添加後でもみられること。

2) Mg^{++} と K^+ とが，拮抗的阻害関係にあること。

3) aging によって，酸化的燐酸化の低下とともに，Mg^{++} の state 3 呼吸促進効果が，低下する事。(Mg^{++}-activated ATPase は一変)

答え：1) われわれは勿論 AdK, crK のみに Mg^{++} が作用するとは考えて居ない。ただ，Mg^{++} の存在により燐酸転移酵素系が活性化し，呼吸調節に関与すると考える。S. W. Stanbuy et al. が報告しているごとく，DNP の作用は基質，濃度により差がみられ，DNP の作用は uncoupler 単独でなく他の酵素系にも作用すると報告されている。彼等は succinate と glutamate, α-kg の基質の際，DNP は異った作用があると報告しており，また，われわれの succinate 基質の際でも Mg^{++} の存在下で ADP 濃度を増加することにより，呼吸速度の増加がみられることから Mg^{++} の作用に electron transfer 系中の部位特異性があることは，今の所考えていない。しかし，DNP と基質，Mg^{++} の作用は更に検討すべきと思う。また glutamate. α-kg 等を基質とした場合 DNP sensitive な電子伝達水準燐酸化のみならず，基質水準燐酸化系をも考慮すべきであり，更に，非共軛化 Mt の succinate 呼吸の抑制機構にも考慮をはらわねばならぬと考える。

2) Mg^{++} と K^+ の関係については，実験成績の持ち合せがおりませんのでお答えしかねる。

3) aging による Mg^{++} の呼吸促進効果の低下についてはわれわれの anoxic の成績では，燐酸化部位の障害を受けても electron-transfer 系の障害は，みられない成績を得ている。このことから，aging による energy 転移系の damage により，より terminal に Mg^{++} 作用点を考えても説明し得ると思う。われわれは，脳 Mt では，Mg^{++}-activated ATP ase は，肝 Mt の ATP ase と同様の成績を得ている。即ち，aging により Mg^{++}-activated-ATP ase は活性化する。貴方の成績の差は incubation time の差によるのではないだろうか。

14. 脳ミトコンドリアよりの K^+ 遊出について

荒　木　　裕・瀬田喜一郎
小川和恵・半　田　　肇
（京大・医・脳外）

Mt はイオンの能動輸送に関与し，酸化的燐酸化を営む事により，種々の電解質に対する濃度勾配を維持している。Mt が K^+ を結合する能力はその構造の正常性に密接に関係して居り，酸化的燐化を阻害したり，腫脹を起させたりする事により，K^+ の消失が惹起される。脳 Mt は他臓器 Mt に比し ischemia により損傷され易く，従って Mt の電解質保持能力に対する ischemia の影響を追究する事は有意義であろうと思う。そこで私達はこの方面より種々追究を行い，脳 Mt では他臓器に比し ischemia および Mt の洗滌操作により K^+, Na^+ の濃度勾配が著明に影響され，また K^+ の動行が Mt 膜よりの脂肪酸の遊離に直接関与しているという事実を得たので報告する。

15. ピルビン酸キナーゼ活性による脳解糖系の調節

高垣玄吉郎（慶大・医・生理）

脳組織における glucose 代謝の調節機構については，すでに多くの研究がある。Lowry らは ischemia によって動物の脳の解糖を増強した場合の intermediate の濃度の変化からホスホフルクトキナーゼ (PFK) の段階が律速的であり調節段階であることを論じ，Rolleston らは脳切片の K 効果の分析から ischemia の場合と同様に，PFK が調節段階であると理解した。著者は昨年度本会における発表で，主に解糖系の種々の intermediates を基質として K-効果をみた成績から，ピルギン酸キナーゼ(PK) の段階もまた調節段階であることを示唆した。

本年度の発表は，昨年の示唆をさらに確かなものとし，それは脳の PK の酵素の特質によるのと，またこの活性は組織構造に関連した要因によって強く抑制されていて律速段階となっており，K-効果や Ca- 除法の場合には，この段階の活性が増強されるために好気的解糖の total flow が増加するのであることを明らかにしたものである。

即ち，K-効果のときには，FDP および triose P が著しく高まり PFK の増強したことを示しているが，triose P よりさきの intermediates はむしろ control より低く，PFK 以下に律速段階のあることを示している。ATP などを加え，あるいは基質としてグルコースとともに 3-PGA あるいは PEP を加え，あるいは 3-PGA

あるいは PEP のみを基質として ADP, NADH の存在のもとに代謝せしめるなど，種々の条件で脳切片の好気的解糖を検すると，PK の段階が調節段階であるとして理解しうる成績がえられた。

また，3-PGA を基質として切片と homogenate を比較すると，切片の解糖が PK の段階で抑制されていることが示された。

質問：成瀬　浩（国立精研）

1) 表1で pyruvate level は下っている。もし pyruvate kinase がつよい activate をうけるなら pyruvate level は上る筈でないか?

2) citrate も PFK に feed back をかけているわけであるが，K effect の時の citrate level は測定したか?

答え：図1の成績は，切片の medium に glucose だけを加えたときのもので，DPN や DPNH は加えてありません。ピルビン酸の濃度は K-効果のとき明らかに下るようです。K-効果のときに，ピルビン酸キナーゼだけが高まるのではないと思います。さらに上の段階も高められるのですから，それとピルビン酸キナーゼの高まる度合のちがいでこのようなことも起りうると思います。

16. ラット脳ホモジネートの解糖に対するガングリオシッドの昂進効果

黒沢　淳・小川保直
（塩野義研）

Krebs-Ringer phosphate（又はその Ca^{++} 欠除液）で調整したラット脳ホモジネートに終濃度 1～3% のガングリオシッドを加えると，グルコースを含む反応液では 30～40% の呼吸昂進が認められた。この現象は脳組織に特異的で，肝，腎，脾，肺，筋，各組織についてはこのようなことはみられなかった。又，脳ホモジネートを用いた場合でも反応液からグルコースを除いたときは効果が減少するし，グルコースの代りに G-6-P，ピルビン酸，又はコハク酸を加えた反応液では呼吸昂進が起らなかった。コハク酸を含む系ではむしろ抑制がみられた。Ca^{++} 欠除リンガーで調整した脳ホモジネートにつき，コハク酸を基質として酸化的燐酸化反応を測定してみると，P/O 比は 1.7 を与え，ガングリオシッドの添加時に著変がみられなかった。嫌気条件でグルコースを基質とした場合の乳酸生成はガングリオシッドの添加により増加した。使用した反応系ではグルコースを除くとガングリオシッド添加の有無に拘りなく乳酸の生成が起らなかった。同様の解糖昂進現象は粗ミトコンドリア分画を用いた実験でも観察された。上記，呼吸並びに解糖昂進現象は Na^+ 濃度の高い反応液中で顕著に認められ，Na^+ と K^+ の濃度を逆にすると低下もしくは消失した。尚，ガングリオシッド添加時の呼吸は 10^{-5}M ウワバインで抑制を受けるが嫌気条件下の解糖は殆んど影響を受けなかった。

質問：中島　照夫（阪大・高次研）

ガングリオシッドの濃度が高濃度ですが生理的と考えられる低濃度でも作用がみられるか。

答え：諸研究者の報告では哺乳動物脳の灰白質に於けるガングリオジッド含量は湿重量比で 0.5～0.7% といわれている。私共が主として使用した濃度は 1.33% で約2倍に過ぎない。0.5～0.6% 位の濃度でも同様の傾向がみられる。

質問：永井　和男（阪大・医・薬理）

ouabain の阻害は呼吸の昂進に対してのみ阻害をしたのか，また膜 ATPase との関連性はどうなるか。

答え：ウワバインを 10^{-5}M で用いた場合に，呼吸のしかもガングリオシッド添加例についてのみ抑制効果がみられた（約 20% 抑制）。従って解糖昂進の直接原因を膜の ATP ase 賦活と ATP レベルの変動に帰することは難しいと思う。

質問：石川　晋次（東大・医・脳研）

濃い homogenate は反応時間内に安定な系であると見なしてよろしいか。

答え：使用したホモジネートは反応液中で終濃度5% に稀釈されますから，特に濃い材料ではないと考える。また，呼吸，乳酸生成に関する限りでは反応時間に応じて比例関係が成立するので大体安定した系とみて良いと思う。

質問：永田　豊（慶大・医・生理）

1) 表5ではガングリオシドを添加した場合に O_2-uptake がかえって下ってしまうのは何故か? 表4の O_2-uptake の値と比べて違いすぎる様である。

2) 解糖を測定する場合に lactate 生成のみならず，glucose 消費も測定された方が良いのではないか。

答え：1) 表5はコハク酸を用いた場合の酸素消費量ですので表4の結果と直接比較することは出来ない。只，ガングリオシッドが使用した濃度で P/O 比に殆んど影響をおよぼさないことを示した結果と御了解頂きたい。

2) 御指摘の通りです。

質問：柿本　泰男（阪大・高次研）

1) ganglioside を用いたのは脳で ganglioside が多いためか，あるいは ganglioside に影響される系が特異的にあると考えたからか。

2) ganglioside は呼吸を stimulate する物質として specific なものか，他の lipid などの効果は? もっと crude な extract を用いて効果をみその物質を purify してそ

れが ganglioside であるというのでしたらさらに興味ぶかい。

3) homogenate 以下の preparation についてしらべられる必要があると思うが。

答え： 1) 電気刺激効果や K^+-効果が神経組織に特異的であるという知見から，呼吸や解糖の調節機構が脳では他の組織と異なる処があるものと考え，その特殊な調節機構に関与しそうな物質としては神経組織に特異的に多量存在するガングリオシッドをとりあげた訳である。

2) 御指摘のように他の組織成分についても検討致したいと思う。セレブロシッドやスルファタイドは比較してみたが作用はみられなかった。

3) 表6に粗ミトコンドリア分画の例を掲げたが，細胞分画を用いた実験は現在検討中である。

17. 脳切片における電気刺激並びにカリウム効果の比較研究

中 沢 省 三（新潟大・脳研）

脳切片の電気刺激およびカリウム効果による本質的な相異点を比較研究するために次のような実験を行った。即ち，反応溶液における各種無機イオンの濃度および組成を変えることにより，または種々の神経系薬剤を添加することによって，この二つの系の刺激呼吸とアミノ酸の transport にどのような影響がおよぶかを比較検討し次の結論に達した。

1) KCl 100 mM 以上の添加によりアミノ酸切片への transport は強く抑制されるが電気刺激では全く抑制をみない。

2) NH_4Cl 5～10 mM の添加により電気刺激の呼吸は著しい抑制を示すが，カリウム効果には影響が見られない。この電気刺激呼吸の抑制は glutamine 合成の inhibitor である methyl sulfoxide および glutamine の添加によって reverse される。

3) 10^{-5} M 濃度の ouabain は，カリウム効果による呼吸には影響を示さず，電気刺激によって高められた組織呼吸を特異的に抑制する。

4) Ach は 100 mM KCl の添加によって惹き起されるアミノ酸 transport の抑制をする reverse する eserine はかかる作用はないが，Ach の reverse action を助ける。

以上の実験結果を検討し，電気刺激並びにカリウム効果の相異点についての考察をすすめた。

質問： 垣内 史郎（中宮病院）

K^+ 効果と電気刺激の効果を比較する場合特に両者の間に質的な差異を結論しようという場合は K^+ 刺激と電気刺激のそれぞれについて刺激の intensity を種々に変えて行い，その結果を比較する方が安全ではないだろうか？ 即ち質的なちがいと思われたものが，刺激の量的な差異によるという危険を防ぐために。

答え： 電気刺激もカリウム効果も公に非常に biological なものであり組織呼吸または lactate の形成上昇という電気刺激条件等とはかなり違った生物学的数値である。しかし勿論われわれは刺激製置の条件を種々変えて組織片で maximum の値を得ている。カリウム効果も濃度を条件を充分吟味の上組織片で maximum の値を得て実験を行っている。共に同じ程度の値を得ているのもこれが組織片で maximum の条件であるからだと思う。

質問： 塚田 裕三（慶大・医・生理）

1) slice の酸素吸収が正常リンゲル液中で高いこと。NH_4^+, glutamate 添加で酸素吸収が高まらないこと。など多くの点で従来の成績と大いに差のあるのをどう考えるか。

2) リンゲル液は phosphate-buffer を用いておられ，$CaCl_2$ 濃度を変える実験には不適当と思われる。用いておられるリンゲル液の Ca^{++} が常に低いのではないかと思われるが如何。

答え： 用いておる medium は Krebs-Ringe phosphate medium で phosphate buffer 10 mM pH 7.4 の状態であり medium に特に変化はありません。slice の切り方の差で control が他の多くの研究より高く出るものと考えている。即ち slice は 0.3mm 程度の厚さで全 cortex の表層のみをとっている。QUASTEL の研究所では O_2 消費は 100 mμ/g wet wt. tissue/hr 以上が normal control で決して medium の差によるものではありません。アンモニアおよびグルタミン酸の添加で control の呼吸の上昇が少ないのはあるいは動物の違いかも知れない。これは他の研究者も上昇が起らない事を発表しているので特に実験条件が異なっているとは考えられない。

神経化学 Vol. 7, No. 2, pp. 85～91, 1968

昭和42年度文部省特定研究

「代謝障害による脳疾患の生化学的研究」班研究報告

	分担研究課題	分担者
1.	脳の特異蛋白質に関する研究	慶応義塾大学医学部教授 塚田裕三
2.	哺乳動物脳におけるセロトニン生合成機構に関する研究	京都大学医学部教授 早石修
3.	覚醒剤中毒動物脳のアミン代謝の研究	東京大学医学部助教授 高橋良
4.	脳の解糖系について	大阪大学医学部教授 佐野勇・他
5.	脂質症の生化学的研究	群馬大学医学部教授 横井晋
6.	脂質症の糖脂質の研究	東京大学医学部教授 山川民夫
7.	代謝異常による神経疾患の病理学的研究	東京大学医学部脳研教授 白木博次
8.	分離細胞での物質代謝	新潟大学脳研教授 佐武明
9.	神経細胞核の代謝とその異常	東京大学医学部脳研助教授 黒川正則
10.	白鼠交感神経節による神経細胞と神経膠細胞の代謝特性に関する研究	慶応義塾大学医学部助教授 永田豊

分担課題 1. 脳の特異蛋白質に関する研究

分担者：塚田裕三
（慶応義塾大学医学部教授）

研究報告： 我々は臓器蛋白を native な状態で効率よく抽出する方法を検討したので報告する。すなわちシロネズミの脳・肝・腎を低温下に 10 容の脱イオン水でホモジェナイズした後，冷却下に 20 kc, 150 w の超音波処理を5分間行ない，105,000 g，60 分の遠沈で得られる上清を分け，沈渣は更に 10 容の水を加えて同様の処理をくりかえし，3回の抽出で組織全タンパク質の 80～90% を超遠沈上清画分に回収し得た（図 1）。これには組織をホモジェナイズする時に水を用いることが必須条件で

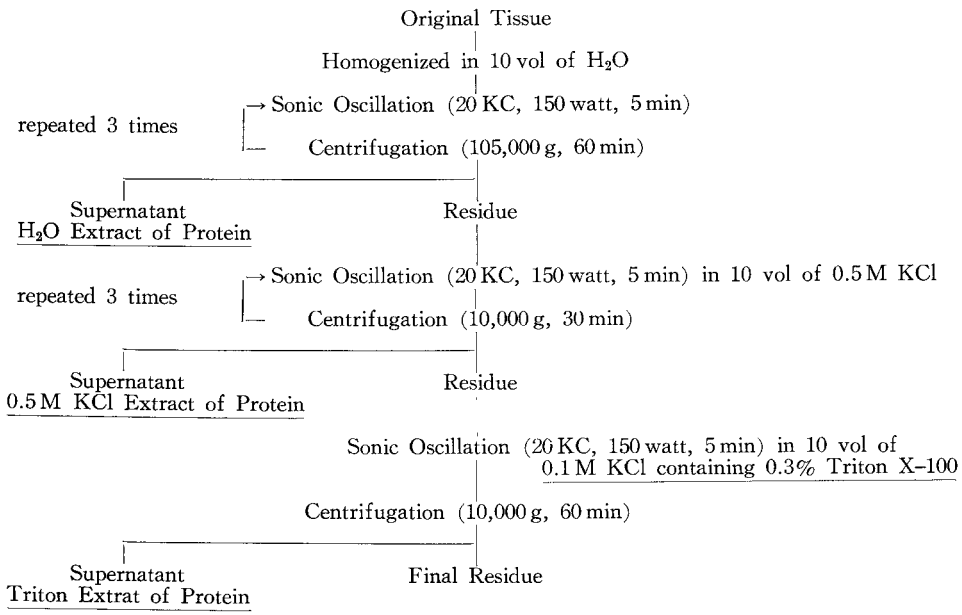
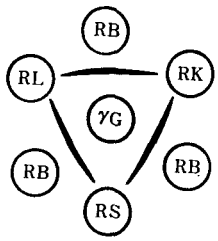


図 1

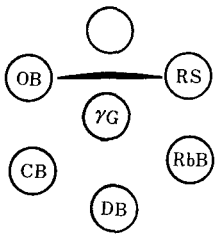
0.32 M-ショ糖，0.15 M-NaCl，緩衝液等を用いた時には超音波処理を行なっても抽出される蛋白質量は 50% 以下であった。水抽出で得られた超遠沈上清画分にはタンパク質と同時に RNA, DNA, リン脂質も 90% 以上回収される。この様な操作を細胞画分に行なった各画分に適用しても同様の結果が得られる。そして脳ミクロソーム画分の水抽出超遠沈上清画分で Na K-ATPase 活性はよく維持される。免疫化学的にこの画分の抗原性に変化がない。さらに水抽出画分をアクリルアミドゲルのディスク泳動法及び DEAE セルロース・カラムで分けることも可能でタンパク質の回収率は 70～80% であり本操作により臓器タンパク質のかなりの部分が可溶化されるものと考えられるが，必ずしも均一な蛋白の粒子成分が可溶化されているものとは考えられず超音波処理により細胞構造を構成している複合蛋白質が種々な大きさの粒子に細分化されていることも考慮せねばならない。

一方シロネズミ脳ミクロソーム画分を EDTA 50 mM で処理した沈渣で家兎を免疫し，得た抗血清及びそのγ-グロブリンは脳とのみ抗原抗体反応を示し（図 2），又他の家兎，犬，ニワトリ，牛の脳とは反応を示めさず



RB : Rat Brain
RL : Rat Liver
RK : Rat Kidney
RS : Rat Serum
γG : anti-R-B-MsEDTA-Ppt γG

図 2



RB : Rat Brain
RS : Rat Serum
RbB : Rabbit Brain
DB : Dog Brain
CB : Chick Brain
OB : Ox Brain
γG : anti-R-B-MsEDTA-Ppt γG

図 3

（図 3），我々はここに臓器特異性，種属特異性をもつ抗原成分をシロネズミ脳ミクロソーム EDTA 沈渣に認めた。又この抗脳ミクロソーム EDTA 沈渣 γ-グロブリンは脳ミクロソームに存在する NaK-ATPase 活性を特異的に抑制し Mg-ATPase は活性上昇を示した。今後更に上記タンパク質抽出法を用いてこの抗原成分の分析を行なおうとしている。

発表文献 塚田裕三，他：臓器蛋白質，特に脳蛋白の抽出分離に関する研究，神経化学 **6**，3 (1967)

分担課題 2. 哺乳動物脳における セロトニン生合成機構に関する研究

分担者：早　石　　修
（京都大学医学部教授）

研究目的 セロトニン (5 HT) は中枢神経系の機能に何らかの重要な役割を果す事が従来より推定されている。併しながらその生合成機構が不明であるために研究手段が制限され，5 HT の作用の詳細は尚不明である。本研究の目的は 5 HT の生合成機構を明らかにし，5 HT の生理及び病理研究の基礎を築くことである。本年度はその第一段階として従来測定が困難であったトリプトファン (Try) 水酸化酵素の新しい assay 方法の開発を試みた。

実験方法 モルモットの脳幹部より得た酵素標品を用いて，L-Try-1,2,3-^{14}C より生成する $^{14}CO_2$ の量により Try 水酸化酵素活性を測定する方法を検討した。方法確立後はこの方法を用いて酵素を部分精製しその性質を調べた。尚 L-Try-1,2,3-^{14}C は大腸菌の変異株より得た Try 合成酵素を用いてインドールと L-セリン-^{14}C(μ) から酵素的に合成した。

実験結果 本年度は (1) L-Try-1,2,3-^{14}C の合成及び精製方法の検討，(2) L-Try-1,2,3-^{14}C を基質とする Try 水酸化酵素の assay 方法の確立，(3) 脳の Try 水酸化酵素の基本的な性質の検討を行なった。その結果，或る適切な条件を選べば精製した L-Try-1,2,3-^{14}C から酵素的に発生する $^{14}CO_2$ の量はその際生成した 5HT の量に等しい事が明らかとなり，更に吟味を加えて確実且つ鋭敏でしかも敏速に行ない得る Try 水酸化酵素の新しい assay 方法を確立し得た。脳の Try 水酸化酵素は脳幹部に最も活性が強く，主として可溶部分と神経末端顆粒分画に存在する。動物種による活性の差は少く，寒冷刺激等による変動も現在迄の所認められていない。上清，顆粒の両酵素共助酵素として還元型プテリジンと SH 剤又は NADPH を必要とする。又上清より部分精製した酵素はフェニルアラニン，チロシンの水酸化を通常の条件では触媒しない。Try に特異的な酵素である事

が推定される。

発表 神経化学 **6** suppl. 5 (1967)

分担課題 3. 覚醒剤中毒動物脳のアミン代謝

分担者：高 橋 良
(東京大学医学部助教授)

台らの従来の研究によって分裂病類似の行動異常を示す覚醒剤中毒動物脳にアミン代謝異常が見出されたが殊にモノアミン酸化酵素活性の局所分布の変化は注目すべきものであった。それはモノアミン酸化酵素は比較的安定な酵素であるため覚醒剤中毒研究の最終目標である精神分裂病者脳の生化学研究に対して一つの検討目標を与えてくれるからである。そこで我々は精神分裂病者脳と対照人脳の各部位 MAO の活性を測定し比較検討した。人脳のMAO活性の測定の際にはいくつかの困難さと検討すべき予備条件がある。まずMAO活性と死後脳が摘出凍結されるまでの時間との関係が明らかにされる必要があり，ついで摘出脳を凍結保存した場合MAO活性がどの位の期間低下せず安定しているかがしらべなければならない。以上の点をラット全脳について研究した結果死後6～7時間まで室温で脳組織 MAO 活性は変化しないことがたしかめられた。また凍結保存した場合 MAO 活性は6ケ月後まで不変であることが認められた。従って人の場合も死後6時間以内に摘出して凍結した脳組織を用いれば自然の条件下のMAO活性を測定することが出来ると思われる。この条件下の人の正常脳及び分裂病脳の部位別MAO活性を測定した結果次のような結果がえられた。

	正常 (1)	人脳 (2)	分裂病者脳 (3)
尾状核	79.8	76.4	68.4
被殻	82.9	72.1	46.6
淡蒼球	66.5	66.7	121.7
視床	82.0	81.8	70.0
視床下部	112.3	171.5	82.3
扁桃核	79.8	110.2	80.9

単位 μM 5 HT/mg protein/hr

以上の結果は若干の興味ある知見を示すようであるが症例数をふやして今後考察を加える予定である。

分担課題 4. 脳の解糖系について——解糖系代謝制御と脳の 3′,5′-AMP 系について

分担者：佐 野 勇・他
(大阪大学医学部高次研教授)

目的 3′,5′-AMP は adenyl cyclase の作用によって ATP から生成し，更にこの物質に特異的な phosphodiesterase によって 5′-AMP に水解される。近年この系が注目されている理由は，3′,5′-AMP が一種の "chemical signal" として細胞の機能調節に働いているものと考えられるからである。なかでも，glycogen phosphorylase, glycogen synthetase, phosphofructrokinase 等に対する 3′,5′-AMP の作用からみて，3′,5′-AMP が解糖系の制御機構に関与しているものと推定され，この方面での研究が今後の重要な課題となるものである。

一方，組織中の 3′,5′-AMP 濃度はその組織に特異的なホルモンによってコントロールされることが知られており，肝臓におけるカテコラミン及びグルカゴン，副腎皮質に対する ACTH 等の作用がしらべられた。これらのホルモンは細胞内の adenyl cyclase を "活性化" することにより組織中の 3′,5′-AMP 濃度を高めることが実験的に確かめられた。

脳の adenyl cyclase 活性及び phosphodiesterase 活性は，ほ乳動物組織中でもっとも高い値を示し，3′,5′-AMP 系の脳での重要な役割を示唆するものでありながら，従来知見に乏しかった。

著者らは脳組織の 3′,5′-AMP 濃度がどのような因子によってコントロールされているのかを実験的に検討して，すでに幾つかの興味ある事実を見出した*)。すなわち表1に示したごとく，脳組織の 3′,5′-APM 濃度に対するホルモン性調節には，ノルエピネフリン感受性及びヒスタミン感受性の少くとも2つの独立した機構の存在することが明らかにされた。

しかしまた，一度小脳組織中に増加した 3′,5′-AMP 濃度が数分後に再び減少すること(脱感作現象)，及び断頭後に大脳皮質中の 3′,5′-AMP レベルが急激に上昇して 90 秒後には "in situ" レベル (略 1×10^{-6} モル per kg 脳) の10倍以上に達して数分間持続すること等が見出された。

これらの事実を更に詳しく追究することが，脳における 3′,5′-AMP 系の生理的動態を解明することにつながるものであり，更にまた脳の解糖系代謝制御といった面

表 1. 脳組織の 3′,5′-AMP 濃度に及ぼす神経ホルモンの影響

	3′,5′-AMP 濃度の変化(対照=1.0)		
	無添加	ノルエピネフリン	ヒスタミン
小脳	1.0	14～20	6～10
大脳皮質	1.0	～ 2	22～28
尾状核	1.0	～ 2	～ 7
視床下部	1.0	～ 2	～28
白質部	1.0	～ 3	～ 4

*) Kakiuchi, S., & Rall, T.W., (印刷中)

での研究の一環をなすものである。現在その第一歩として，酵素レベルにおける研究，すなわち，adenyl cyclase 及び phosphodiesterse の酵素学的性格を明らかにするべく実験的検討を加えているが，その結果を基礎として，将来さらに，3′,5′-AMP の Turn over といった面からも 3′,5′-AMP 系の生理的動態を解析したいとも考えている。

方法及び結果

§ 1. 3′,5′-AMP 定量法 (adenyl cyclase 活性の測定) について

サンプル (incubation mixture) を Dowex 1×8(Cl′) のカラムにて除塩し，薄層クロマトグラフにて展開して得た 3′,5′-AMP のスポットをデンシトメーター（クロモスキャン；フィルター 2650Å）上にて直接定量する方法を開発した。感度は略 2×10^{-9} モルである。

大脳組織の adenyl cyclase 活性は他の組織に比べて最大の値を示すものであるが，尚且つ1グラムの組織当り 30 分間 (30°C) に 1μ mole 前後の 3′,5′-AMP を形成するに過ぎない。従って，上述の方法にラジオアイソトープを併用して更に測定の感度を高めるべく，目下その方法を実験的に検討中である。

§ 2. 脳 phosphodiesterase (3′,5′-AMP 分解酵素) について

[2-1] 酵素活性の測定には Butcher, Sutherland[1] の方法を modify した。incubation mixture は 1 ml 中に 40μ mole Tris (pH 7.4)；2μ mole $MgSO_4$；2μ mole 3′,5′-AMP を含む。30°C にて 30 分間反応後，加熱 (95°C, 3′) にて反応を停止したのちに 0.15 ml (0.15 mg) の crotalus atrox venom を加えて 30°C 10 分間反応される。反応停止 (PCA) 後に Pi を Chen ら[2] の方法により定量するものである。第1図は大脳の crude homogenate を用いた場合の time course である。縦軸は Pi 形成量 (5′-AMP 形成量) であるが，別に同一のサンプル (60分値のみ) についてその 3′,5′-AMP 減少量を § 1 で述べた方法にて測定した値を棒グラフ A′, B′ で示した。A, B の 60 分値とそれぞれ良く一致している。

以下 30°C にて 30 分間に 1.0μ mole の 3′,5′-AMP を分解する酵素量を1単位と定めた。

蛋白定量は Lowry ら[3] の方法によった。

酵素材料として雄，5～8 週令の Sprague Dowley 系ラットを断頭して得た脳（小脳を除く）を用いた。なお preparation の操作はすべて 4°C にて行なった。

[2-2] 新鮮脳を7倍容の 0.32 M 庶糖と共に homogenize（ガラス-テフロンホモジナイザー）した後遠心沈澱分画を行なった結果を表2に示す。Particulate fraction (P) 及び soluble fraction (S) の両分画に phosphodiesterase 活性がみられる。P に見られる活性の割合 (P/P+S×100) は約 50% であり，この値には動物の断頭後における時間経過 (1′50″, 8′,30′) の違いによっても，また麻酔後の断頭 (2′) によっても大きな変動はみられなかった。

一方，Triton 処理によってこの比 (P/P+S×100) は上昇して略 70% にいたった。これは Triton 処理にて P の活性が2倍以上に増加したためである。

P の活性を可溶化する試みは，低滲透士処理，凍結ゆう解，アセトン処理によっては達せらず，殊に後2者の場合には全活性の低下が見られた。

[2-3] 以上により脳 phosphodiesterase には "free" 及び "particle bound" の2つの存在様式のあること，及び latent の酵素活性の存在することが示され，その酵素的性格の差異，及びその生理的意義を目下検討中で

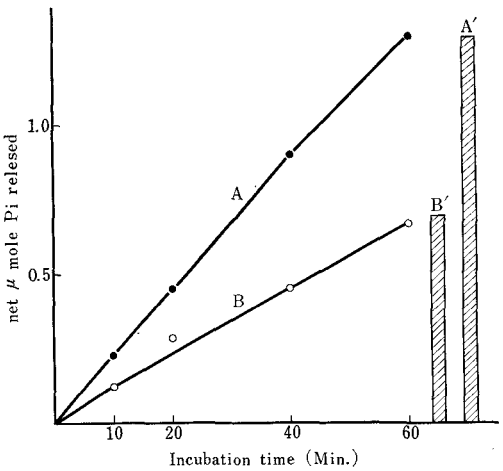


図 1 phosphodiesterase 活性
A； crude enzyme, 0.76 mg protein
B； 〃 , 0.38 mg protein

表 2. 脳 phosphodiesterase の分画

fraction	N	P	S	total
Total unit				(脳2.6 g)
Triton X-100 処理前	29	173	160	362
Triton X-100 処理後*)	48	420	160	628
Specific activity				
Triton X-100 処理前		0.96	2.3	
Triton X-100 処理後*)		2.3	2.3	

*) 終末 0.2%, 4°C, 30分間処理酵素
N； 4000 rpm($10^3\times$g) 12′, ppt.
P； 日立 55 P, 40000 rpm($10^5\times$g) 60′, ppt.
S； 日立 55 P, 40000 rpm($10^5\times$g) 60′, sup.

ある。

文 献

1) Butcher, R.W., & Sutherland, E.W., J. Biol. Chem., **237**, 1244 (1962).
2) Chen, P.S., Toribara, T.Y., & Warner, H., Anal. Chem., **28**, 1756 (1956)
3) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J., J. Biol. Chem., **193**, 265 (1951)

発 表

① 垣内史朗, T.W. Rall; 第9回神経化学懇話会(大阪, 1966 Oct.)

② 垣内史朗; 第5回日本臨床代謝学会 (名古屋, 1968 Feb.)

分担課題 5. Gargoylism 脳の糖脂質分析

分担者: 横 井 晋
(群馬大学医学部教授)

Gargoylism は特有な臨床症状を呈する遺伝性代謝疾患であり, 諸臓器に蓄積物質が認められる。その性状については既に多くの報告がみられるが, その病因については, 未だ充分に明らかにされていない。

私は, 2~3の大学病理学教室から恵与されたGargoylism 4例について, その大脳皮質の糖脂質分析を行ない知見を得たので報告する。

症例はいずれも臨床症状と病理診断によって確かめられたもので, 全て formalin 固定脳である。

大脳皮質を充分に注意して切り出し, aceton homogenate をつくり, 残渣を熱 chloroform-methanol により連続抽出する。抽出物を乾燥後, ether にて処理して, ether に不溶部分を取り, これを粗糖脂質とする。粗糖脂質を硅酸 column chromatography にて, chloroform-methanol の割合を段階的に変えながら elute して各糖脂質を分離した。それぞれの糖脂質は薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いて同定を行なった。

以上の如くにして得られた結果は次の通りである。

1. 4例のいずれにも gangliosides の増加がみとめられた。しかも死亡時年令の若いもの程その増加が著しい傾向を示している。

2. gangliosides 分画中に対照例にはみられない糖脂質が TLC によって確かめられた。これは Tay-Sachs ganglioside より Rf 値が大きく, Bial 反応は陽性であった。この糖脂質については, 現在検討中である。

3. 対照例にくらべて, 4例の症例ともに sulfatide が増加しているようにみえるが, TLC によって検索すると, その中にはかなりの量の ceramide di-hexoside (CDH) が認められており, sulfatide には, あまり変化がなく, CDH の増加がいちじるしい。

分担課題 6. ガルゴイリズム脳の糖脂質

分担者: 山 川 民 夫
(東京大学医学部教授)

研究目標 従来, ガルゴイリズム患者脳で Tay-Sachs 病脳ほど著しくはないが, ガングリオシドの異常蓄積が報告されている。最近では, 幾種類ものガングリオシドが見出されて来て, 薄層クロマトによる分析で, ガルゴイリズム脳のガングリオシド組成パターンが正常脳のそれとかなり異なることが示されているが, まだ詳細な化学分析による報告は見あたらない。

今度, ガルゴイリズムと診断され, 死亡した4才男子の脳の糖脂質について詳細な分析を試みることを目的とした。

研究方法 病脳組織よりクロロホルムメタノール (2:1, V/V) で全脂質を抽出後, アセトン, エーテル処理後, そのエーテル不溶分画を珪酸カラムクロマトにかけて, 各種の糖脂質の溶出パターンを得ると共に, 各糖脂質分画については再クロマトや薄層クロマトによって分離精製した。各糖脂質は化学分析, 薄層クロマト, 赤外スペクトル, メチル化糖のガスクロマト法などによって同定確認された。また, それらの脂肪酸組成やスフィンゴシン塩基組成もガスクロマトによって分析された。

研究経過及び考察 ガルゴイリズム脳の正常脳と比して著しく異なることとして, セラミド・ラクトシドが多量に見出されること, 更に, 正常脳で普通に見られるガングリオシド G_{II}, G_{III} が非常に少なくて, むしろ, ヘマトシド, ガングリオシド G_0, G_I が多量を占めることが見出された。これら多量を占めるセラミドラクトシド, ヘマトシド, ガングリオシド G_0, G_I はいずれも $C_{18:0}$ のステアリン酸が 80% 以上を占め, スフィンゴシン塩基では C_{18} スフィンゴシンがほとんどで, 僅かにジヒドロスフィンゴシンがあり, C_{20}-スフィンゴシンは見られなかった。ガルゴイリズム脳に見出されるセレブロシドとサルファタイドは正常脳のそれらと同様に $C_{24:0}$, $C_{24:1}$ を主成分とする長鎖脂肪酸が約 70% を占めた。これらのスフィンゴシン塩基組成も C_{18} スフィンゴシンがほとんどで, ジヒドロスフィンゴシンは僅かであった。

このように, ガルゴイリズム脳で糖脂質の組成が正常脳や Tay-Sachs 病脳のそれらとかなり相異するのは, やはりガルゴイリズム脳特有の糖脂質代謝異常が考えられるのかもしれない。

発表 T. Taketomi & T. Yamakawa: Glycolipids of the Brain in Gargoylism. Japan. J. Exp. Med. 37:

11–21, 1967.

研究課題 7. 脳疾患の織組化学

分担者：白木博次
（東京大学医学部脳研教授）

ガルゴイリズムの3剖検例と2生検例を，神経病理学，組織化学，電顕学的に検討した成果は，下記に要約される。

1. 組織化学的には，神経細胞胞体中の蓄積物質は，黒内障性白痴のそれとほぼ同様，糖，タンパク，アミノ酸反応陽性の複合脂質といえるが，酸性ムコ多糖類（Alcian 青）が強陽性である点が，後者とちがう点のようにみえるが，絶対的な差とも思えない。ただ組織化学には方法論の限界があるので，それ以上，その詳細な化学構造を論ずるのは危険であり，不可能でもある。

2. 生検材料の電顕像では，神経細胞の胞体のみならず，その軸索突起中にも，多量の Zebra 小体が蓄積し，一方，黒内障性白痴にみられる Onion skin 小体も少数みいだされる。Zebra 小体の少数のものは，また星状グリアの突起や血管壁にも沈着する。この小体と光顕レベルでの複合脂質との関係は，今後の問題である。

3. routine 染色による所見としては，神経細胞の病変に関しては，黒内障性白痴と全く区別できない。大標本によって検索できた1例について，その大脳白質をみると，前頭葉の全体，またとくに眼窩回，さらに側頭葉の第 1, 2, 3 回がそれぞれ脱髄し，グリオーゼをきたしているが，また，視床の前，背内側両核にも目立つ。これは個体発生学的にみて，新しい脳領域を示唆し，そこが生後，崩壊したものとみられる。したがってガルゴイリズムの脳を生化学的に分析するとしても，まず，皮質と白質とを厳密に分離すべきであり，また同じ白質にしても，個体発生学的に新旧の区別をたて，またそこの崩壊過程の有無をたしかめておかぬと，データのバラツキが大きく，そのよみも無意味となる可能性がある。また本例には，大脳や脳幹にかなりの Malformation があり，加えて toxoplasmosis の混合感染がみられた。したがって本症のみならず，脳疾患の生化学的分析全般についていえるのは，神経病理学との緊密なタイアップと同時に病変の局在を重視しなければならぬ以上，微量分析の方向を目指さざるをえないであろう。

分担課題 8. 分離細胞での物質代謝

分担者：佐武明
（新潟大学脳研教授）
研究協力者：長谷川精一，阿部幸子，田中隆一

研究目的 代謝実験に供することが出来る神経細胞を多量分離すること。更に脳障害時の脳の化学的変化に対し基礎的資料を供給すること。

研究方法と結果 材料として種々の動物脳を用いたが主として豚脳幹部を用いた。屠殺後約 10 分で取り出した豚脳を低温下搬入し，脳幹部の上丘から第IV脳室下端迄を切断細切し 20% Ficoll, 10mM $CaCl_2$, 100 mM KCl, 50 mM NaCl, 10 mM Tris–緩衝液 pH 7.6 に浮遊しナイロン篩，開口 740 μ, 440 μ, 340 μ を順次沪過し，沪液を 4,000 r.p.m. 30 分遠心後沈渣を再び 20% Ficoll に懸濁後 190 μ 開口ナイロン篩を沪過し 35% Ficoll 一定量に重層，遠心 4,000 r.p.m. 15 分を繰返し更に 74 μ, 31 μ 開口ナイロン篩を沪して 2 つの細胞画分を得た。74 μ 開口篩を通り 31 μ 開口篩上に残るものは形態，被染色性，電顕像から判定して大型神経細胞体であり，31 μ 開口篩を通り抜けるものは小型の神経細胞体と考えられるものの他に多数の丸型の細胞を認めた。この細胞診断については目下行いつつある。Roots と Johnston は神経細胞の膜構造は分離という操作によって失われてしまうとし Rose の細胞に於ても膜の保存は良くない。私共は分離に用いたすべての溶液に牛血清アルブミンを 1% に加え，更に分離細胞を一旦豚血清に懸濁後 OsO_4 固定を行ない，又アルコール脱水と propylene oxide 処理時間を短縮したところ，大部分の膜が保存された状態の電顕像を得ることが出来た。アルブミン存在の有無によるものか目下検討中である。分離した神経細胞から SDS–フェノール法でリボ核酸を分離し低濃度ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行なったところ使用溶質中アルブミンの有無に不拘，動物組織に特有な泳動像を得，かつ 4S リボ核酸の像を等しく認めたことから分離操作中分子量2万程度のものはアルブミンの有無に不拘遊出しないことを認めた。

分担課題 9. 神経系細胞核の代謝とその異常

分担者：黒川正則
（東京大学医学部脳研助教授）
研究協力者：加藤尚彦，稲村博

研究目的 中枢神経組織からノイロン核・グリア核を分別的に分離し，これらの代謝的特性と病的脳における変化を追求する。

研究方法 細胞分画法を用いて，大脳皮質からノイロン核：グリア核（% 比）をそれぞれ次の割合に含む 3 種の核標品を分離した[1]。

P4II (51 : 49), Ps(4 : 96), PL(80 : 20)

また肝臓より P4II と同じ方法で肝細胞核標品 LN を分離した。これらの核標品について in vitro で ^{14}C–アミノ酸の一般タンパクへの転入を調べた。アミノ酸としては ^{14}C–Lys, ^{14}C–Arg, ^{14}C–Leu, (L 型，universally

labelled) を用いた。標準反応液の組成は終濃度,25 mM 燐酸緩衝液 pH 7.0, 20 mM グルコース,5 mM $MgCl_2$, 20 mM KCl, 20 mM NaCl。イオンの影響を除く場合は，イミダゾールまたはトリス・塩酸緩衝液を用いた。一回の反応に用いた核数は 5～50×10^6 個である。反応は 38°C，好気的に行なった。

結果 ① 0～120 分の範囲で LN, P4II ともに前記の各アミノ酸をおおむね直線的にとり込む。この際特に Leu の転入が低いことが目立った。

② 至適 pH は 7.0 である。よりアルカリ側では脳細胞核は反応中に凝集するため一定した測定値が得られない。アミノ酸転入の Na^+ イオンおよび浸透圧への依存性はほとんど認められず，また核構造を超音波で破壊しても影響は少ない。しかし核標品を −20°C で保存すると，2日以後には約 30% の活性低下がみられる。

③ ^{14}C–Lys の転入は，反応液中に 1000 倍濃度の cold Lys を添加すると停止する。さらに 60 分間振盪を続けても転入したパルスは変化しない。また一度転入したパルスは，4種のプロテアーゼ（トリプシン，ペプシン，α–キモトリプシン，プロチーム）によって透析性非透析性および水不溶性の3種の成分に分解される。これらの成分の割合は LN と P4II ではそれぞれ異なっている。また ^{14}C–Lys の転入はピューロマイシンにより 40～60% 阻害される。

これらの結果はアミノ酸の転入がタンパク合成によるものであり，また肝臓と脳においては合成される核タンパクの種類が異なることを示唆している。

④ DNase, RNase は約 20% の阻害を示した。また種々の代謝阻害物質のうちでは CN^- とモノヨード酢酸の活性阻害が著しい。

⑤ 同一核数当りの ^{14}C–Lys の転入は P4II＞LN＞Ps の順である。すなわちノイロン核のタンパク合成能はグリア核に比べて著しく高く，肝細胞核はこの中間に位する。このことは我々がすでに報告した。ATP: NMN アデニリルトランスフェラーゼの活性差[2] に加えて，ノイロン核とグリア核の重要な生物学的特性のちがいを示唆している。

文 献

1) T. Kato and M. Kurokawa: (1967) J. Cell Biol. **32**, 649～662.

2) M. Kurokawa, T. Kato and H. Inamura: (1966) Proc. Japan Acad. **42**, 1217–1222.

分担課題 10. 白鼠頸部交感神経節による神経細胞と神経膠細胞の代謝特性に関する研究

分担者：永 田 豊
（慶応義塾大学医学部助教授）

白鼠上頸部交感神経節の節後神経を切断手術後約一週間経過すると，神経節内の大部分の神経細胞は脱落消失して，非ニューロン性の細胞の著しい増殖が起る。形態学的並びに生化学的検索より，この増殖した細胞は結合織性の肉芽組織というよりは神経性起源をもつシュワン細胞であることが強く示唆されている。この手術側神経節と神経細胞を有する正常神経節との代謝を比較することによってシュワン細胞と神経細胞の生化学的特徴を明らかに出来ると考えられた。先づアミノ酸の代謝系の検討を行なったが，節後神経切断手術によって組織内遊離アミノ酸含量は正常のものとほとんど変らず，又 C^{14}–U–ブドウ糖から遊離アミノ酸へのラベリングも両者共同一のパタンを示し，主にグルタミン酸とアスパラギン酸へ取込まれるという神経組織の特徴が保たれている。又グルタミン酸の能動輸送系も最初の短時間は手術側・非手術側共に同程度に取込みがみられるが，手術側神経節では時間と共に取込みの増加率は減少して，アミノ酸の神経節/medium 比がほぼ 1.7 で飽和に達し以後増加しない。これに反し神経細胞を含む正常組織では持続的取込み増加が見られたことがら，アミノ酸は先づシュワン細胞に取込まれた後隣接した神経細胞へ受渡され，そこに蓄積すると考えられる。また，手術側神経節ではアミノ酸取込みの立体特異性が全く失われてしまったことからこの性質は神経細胞の持つ特性と考えられた。更に細胞膜の構成成分である燐脂質の代謝を P^{32} の取込みから検討した。電気刺激やアセチルコリンによりフォスフォイノシトール分画への取込みが増加することを見たが，節後神経切断によりこのイノシトール効果は消失した。

発 表 Y. Nagata & Y. Tsukada: Effect of degeneration of sympathetic ganglion cells on amino acid metabolism in cervical ganglion from the rat. Exp. Brain Res., **5**, 203～211 (1968).

神 経 化 学 Vol. 7, No. 2 pp. 93～107, 1968

Neurochemistry Current Titles

CONTENTS

I. General Neurochemistry 308–329
II. Electrolytes, Metals & Inorganic Constituents 330–347
III. Carbohydrates & Related Compounds 348–354
IV. Amino Acids, Peptides & Related Compounds 355–364
V. Proteins 365–377
VI. Nucleic Acids & Related Compounds 378–386
VII. Lipids, Steroids & Related Compounds 387–420
VIII. Biogenic Amines 421–455
IX. Neuro- & Psychotropic Drugs 456–491
X. Sucellular Unites 492–497
XI. Enzymes & Co-factors 498–514
XII. Metabolism 515

LIST OF JOURNALS COVERED

A Acta Neurol. Scand. ..... **43**(5*), Suppl. 33*, 34*
Acta Physiol. Scand. ..... **71**(4), Suppl. 299*, 300*, 301*
Acta Psychiat. Scand. ..... **43**(3*, 4), Suppl. 196*, 197*, 198*, 199*
Am. J. Physiol. ..... **213**(6), **214**(2, 3)
Am. J. Psychiat. ..... **124**(8*, 8-Suppl., 9*)
Analyst ..... **93**(1102*, 1103*, 1104*)
Anal. Biochem. ..... **22**(1*)
Anal. Chem. ..... **40**(3*, 4*)
Arch. Biochem. Biophys. ..... **123**(1, 2)
B Biochem. Biophys. Res. Commun. ..... **30**(1*, 2*, 3, 4*, 5*)
Biochem. J. ..... **106**(3, 4), **107**(1, 2)
Biochem. Pharmacol. ..... **17**(2, 3)
Biochemistry ..... **7**(2, 3*)
Biochim. Biophys. Acta. ..... **150**(2), **151**(2), **152**(2*), **153**(1*, 2*), **154**(1*, 2*), **155**(1*, 2*), **156**(1, 2)
Brain ..... **91**(1*)
Brain Res. ..... **6**(4), **7**(1*)
Brit. J. Pharmacol. ..... **32**(2)
Brit. J. Psychiat. ..... **114**(506*, 507, 508*)
C Can. J. Biochem. ..... **46**(1*, 2*)

Can. J. Physiol. Pharmacol. .....**46**(1)
Chem. Phys. Lipids .....**2**(1*)
E Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. ...**24**(3, 4*)
Ergeb. Physiol. Biol Chem. Exp. Pharmakol..... ——
Europ. J. Biochem. .....**3**(4*), **4**(1)
Europ. J. Pharmacol. .....**2**(3, 4)
Exp. Brain Res. .....**5**(1*)
Exp. Cell Res. .....**48**(3*), **49**(1*)
Exp. Neurol. .....**20**(1)
F Federation Proc. .....**27**(1, 2*)
Fette, Seifen, Anstrichm. .....**70**(1)
H Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. .....**349**(2*, **3**)
I Intern. J. Neuropharmacol. .....**7**(1)
Intern. Rev. Neurobiol. ..... ——
J Jap. J. Pharmacol. .....**18**(1*)
Jap. J. Physiol. .....**17**(6*)
J. Am. Oil Chem. Soc. .....**45**(1*, **2***, 3*)
J. Biochem. (Tokyo) .....**63**(1*, 2*, **3***)
J. Biol. Chem. .....**243**(2, 3, 4*, 5*)
J. Cell Biol. .....**36**(2*, 3*)
J. Cell Physiol. .....**70**(3)
J. Clin. Endocrinol. Metab. .....**28**(1*, 2*)
J. Clin. Invest. .....**47**(2*, 3)
J. Exp. Med. .....**127**(2*, 3*)
J. Gen. Physiol. .....**51**(2, 3)
J. Histochem. Cytochem. .....**15**(12), **16**(1*)
J. Lipid Res. .....**9**(2)
J. Neurochem. .....**15**(2, 3, 4)
J. Neurol. Sci. .....**5**(3)
J. Neurophysiol. ..... ——
J. Pharmacol. Exp. Therap. .....**159**(2), **160**(1)
J. Physiol. (London) .....**194**(1, 2, 3), **195**(1)
J. Psychiat. Res. .....
L Life Sci. .....**7**(2, 3, 4, 5, 6)
Lipids .....**3**(2)
N Nature .....**217**(5127, 5128, 5129, 5130, 5131, 5132, 5133, 5134*, 5135*)
Naturwissenschaften .....**55**(1*, 2*, 3*)
Neurology .....**18**(1pt. 1, 1pt. 2, 2, 3)
Neuropsychiatria .....**6**(1*)
P Pfluegers Arch. Ges. Physiol. .....**298**(4*), **299**(1*, 2)
Pharmacol. Rev. ..... ——
Physiol. Rev. ..... ——
Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. .....**59**(1*, 2*)
Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B .....**169**(1015*, **1016***)
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. .....**126**(3*), **127**(1)
Psychopharmacologia .....**12**(2, 3)
S Science.....**159**(3814*, 3815, 3816, 3817, 3818*, 3819, 3820, 3821, 3822)
Sci. Am. .....**218**(3*, 4*)
Ann. N. Y. Acad. Sci. .....**144**(2)

* 印は，その号についても検索したが，神経化学文献が見当らなかったことを示します。

I. General Neurochemistry (308-329)

308. Alnoes, R.
Desipramin (Sertofren(R)) in der Behandlung der Depressionen.
Acta Psychiat. Scand. **43** (4): 444–52, '67.

309. Bleyer, W. A. & Rosen, M. G.
Meperidine-induced changes in the maternal and fetal electroencephalograms of the guinea pig.
Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. **24** (3): 249– , '68.

310. Brown, J. H., et al.
Studies on the acute inflammatory response. I. Involvement of the central nervous system in certain models of inflammation.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **160** (1): 231– , '68.

311. Florey, E. & Winesdorfer, J.
Cholinergic nerve endings in octopus brain.
J. Neurochem. **15** (3): 169– , '68.

312. Freeman, J. M.
Treatment of subacute sclerosing panencephalitis with 5-bromo-2-deoxyuridine and pyran copolymer.
Neurology 18 (1 pt. 2): 176–81, '68.

313. Frith, C. D.
The effects of nicotine on the consolidation of pursuit rotor learning.
Life Sci. 7 (2): 77– , '68.

314. Garg, M. & Holland, H. C.
Consolidation and maze learning: a further study of post-trial injections of a stimulant drug (nicotine).
Intern. J. Neuropharmacology 7 (1): 55–9, '68.

315. Garg, M. & Holland, H. C.
Consolidation and maze learning: The effects of post-trial injections of a stimulant drug (Picrotoxin).
Psychopharmacologia **12** (2): 96–103, '68.

316. Garg, M. & Holland, H. C.
Consolidation and maze learning: the effects of post-trial injections of a depressant drug (Pentobarbital sodium).
Psychopharmacologia **12** (2): 127–32, '68.

317. Langley, O. K. & Landon, D. N.
A light and electron histochemical approach to the node of ranvier and myelin of peripheral nerve fibers.
J. Histochem. Cytochem. **15** (12): 722– , '67.

318. Manghani, D. K. & Dastur, D. K.
Wilson's disease in India: II. Biochemical and pathogenetic considerations in patients, parents, and siblings.
Neurology 18 (2): 117– , '68.

319. Mellanby, J. & Whittaker, V. P.
The fixation of tetanus toxin by synaptic membranes.
J. Neurochem. **15** (3): 205– , '68.

320. Milosevic, M. P., et al.
Ganglionäre Wirkungen einiger Oxime.
Naturwissenschaften **55** (3): 134– , '68.

321. Narahashi, T. & Haas, H. G.
Interaction of DDT with the components of lobster nerve membrane conductance.
J. Gen. Physiol. **51** (2): 177– , '68.

322. Phillis, J. W. & Tebecis, A. K.
Prostaglandins and toad spinal cord responses.
Nature **217** (5133): 1076– , '68.

323. Reinis, S. & Kolousek, J.
Effect of methionine sulphoximine on memory transfer.
Nature **217** (5129): 680– , '68.

324. Reivich, M., et al.
The effect of slow wave sleep and REM sleep on regional cerebral blood flow in cats.
J. Neurochem. **15** (4): 301– , '68.

325. Riker, W. K.
Ganglion cell depolarization and transmission block by ACh: independent events.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **159** (2): 345– , '68.

326. Scremin, O. U.
Sodium fluorescein penetration from the perfused cerebral ventricles into different areas of the rat hypothalamus.
J. Physiol. **194** (1): 42P– , '68.

327. Spehlmann, P. & Colley, B.

Effect of diazepam (Valium(R)) on experimental seizures in unanesthetized cat.
Neurology **18** (1 pt. 1): 52–60, '68.

328. Soumireu-Mourat, B. & Cardo, B.
Activity and learning in rats after magnesium pemoline.
Psychopharmacologia **12** (3): 258– , '68.

329. Stein, D. G., et al.
Magnesium pemoline: facilitation of maze learning when administered in pure dimethylsulfoxide.
Life Sci. **7** (4): 147– , '68.

II. Electrolytes, Metals & Inorganic Constituents (330-347)

330. Amdisen, A. & Schou, M.
Lithium and the transfer rate of sodium across the blood-brain barrier.
Psychopharmacologia **12** (3): 236– , '68.

331. Baker, P. F. & Manil, J.
The rates of action of K^+ and ouabain on the sodium pump in squid axons. (BBA 71016)
Biochim. Biophys. Acta **150** (2): 328– , '68.

332. Belleau, B.
Water as the determination of thermodynamic transitions in the interaction of aliphatic chains with acetylcholinesterase and the cholinergic receptors.
Ann .N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 705–19, '67.

333. Blaustein ,M. P. & Goldman, D. E.
The action of certain polyvalent cations on the voltage-clamped lobster axon.
J. Gen. Physiol. **51** (3): 279– , '68.

334. Canepa, F. G.
The role of ionic environment forces in the chemical transmission of nerve impulses by acetylcholine.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 918–35, '67.

335. Clarke, N. P. & Rushmer ,R. F.
Tissue uptake of ^{86}Rb with electrical stimulation of hypothalamus and midbrain.
Am. J. Physiol. **213** (6): 1439– , '67.

336. Cutler, R. W. P., et al.
Cerebrospinal fluid transport of sulfate in the cat.
Am. J. Physiol. **214** (3): 448– , '68.

337. Giacobini, E., et al.
Intracellular variations of Na and K in isolated nerve cells.
Acta Physiol. Scand. **71** (4): 391–400, '67.

338. Heiner, L., et al.
Electrolyte content of brain and blood after deprivation of paradoxical sleep.
J. Neurochem. **15** (2): 150– , '68.

339. Hille, B.
Pharmacological modifications of the sodium channels of frog nerve.
J. Gen. Physiol. **51** (2): 199– , '68.

340. Hubbard, J. I., et al.
On the mechanism by which calcium and magnesium affect the spontaneous release of transmitter from mammalian motor nerve terminals.
J. Physiol. **194** (2): 355– , '68.

341. Huertas, J. & McMillin, J. K.
Paradoxical sleep: effect of low partial pressures of atomospheric oxygen.
Science **159** (3816): 745– , '68.

342. Koketsu, K. & Nishi, S.
Calcium spikes of nerve cell membrane: Role of calcium in the production of action potentials.
Nature **217** (5127): 468– , '68.

343. Kuperman, A. S., et al.
Action of procaine on calcium efflux from frog nerve and muscle.
Nature **217** (5129): 673– , '68.

344. Machne, X. & Orozco, R.
Effects of temperature and calcium variation on membrane potentials of crayfish axons.
Am. J. Physiol. **214** (3): 672– , '68.

345. Swanson, P. D.
Effects of ouabain on acid-soluble phosphate and electrolytes of isolated cerebral tissue in presence or absence of calcium.
J. Neurochem. **15** (2): 57– , '68.

346. Tasaki, I., et al.
Role of divalent cations in excitation of squid giant axons.
Am. J. Physiol. **213** (6): 1465– , '67.

347. Volle, R. L. & Pappano, A. J.

Some relationship between drugs and ions at a ganglionic synapse.
Federation Proc. **27** (1): 110– , '68.

III. Carbohydrates & Related Compounds (348-354)

348. Hotta, S. S. & Seventko, J. M., Jr.
The hexosemonophosphate shunt and glutathione reduction in guinea pig brain tissue: changes caused by chlorpromazine, amytal, and malonate.
Arch. Biochem. Biophys. **123** (1): 104– , '68.
349. Mark, J., et al.
Glucose and lactic acid content of the rat brain.
J. Neurochem. **15** (2): 141– , '68.
350. Morselli, P. L., et al.
The effect of injections of fluorocitrate into the brains of rats.
Biochem. Pharmacol. **17** (2): 195– , '68.
351. Prockop, L. D.
Cerebrospinal fluid lactic acid: clearance and effect on facilitated diffusion of a glucose analogue.
Neurology **18** (2): 189– , '68.
352. Siesjö, B. K., et al.
The CSF lactate/pyruvate ratio in cerebral hypoxia.
Life Sci. **7** (2): 45– , '68.
353. Singh, M. & Bachhawat, B. K.
Isolation and characterization of glycosaminoglycans in human brain of different age groups.
J. Neurochem. **15** (3): 249– , '68.
354. Zor, U., et al.
Effect of a monoamine oxidase inhibitor (mebanazine) on brain glucose-6-phosphate dehydrogenase activity.
Europ. J. Pharmacol. **2** (3): 193– , '68.

IV. Amino Acids, Peptides & Related Compounds (355-364)

355. Berl, S., et al.
Compartmentation of glutamic acid metabolism in brain slices.
J. Neurochem. **15** (2): 131– , '68.
356. Diamond, J.
The activation and distribution of GABA and L-glutamate receptors on goldfish mauthner neurones: an analysis of dendritic remote inhibition.
J. Physiol. **194** (3): 669– , '68.
357. Fahn, S. & Cote, L. J.
Regional distribution of γ-aminobutyric acid (GABA) in brain of the Rhesus monkey.
J. Neurochem. **15** (2): 209– , '68.
358. Gallagher, B. B., et al.
Seizure thershold and excess and dietary amino acids.
Neurology **18** (3): 208– , '68.
359. Herz, A. & Freytag-Loringhoven, H. V.
Über die synaptische Erregung im Corpus striatum und deren antagonistische Beeinflussung durch mikroelektrophoretisch verabfolgte Glutaminsäure und Gamma-Aminobuttersaäure.
Pfluegers Arch. Ges. Physiol. **299** (2): 167– , '68.
360. Matheson, D. F.
Influence of age in the incorporation of [^{14}C] glycine into isolated rat nerve segments *in vitro*.
J. Neurochem. **15** (3): 187– , '68.
361. McKean, C. M., et al.
The influence of high phenylalanine and tyrosine on the concentrations of essential amino acids in brain.
J. Neurochem. **15** (3): 235– , '68.
362. Varma, R. R., et al.
The effect of some psychopharmacological agents on heat stress-induced changes in the glutathione levels of brain and blood in rats.

Psychopharmacologia **12** (2): 170–5, '68.

363. Whisler, K. E., et al.
Cerebral amino acids and lipids in drug-induced status epilepticus.
J. Neurochem. **15** (2): 215– , '68.

364. Wurtman, R. J., et al.
Formation of melatonin and 5-hydroxy-indole acetic acid from ^{14}C-tryptophan by rat pineal glands in organ culture.
Nature **217** (5132): 953– , '68.

V. Proteins (365-377)

365. Barondes, S. H.
Further studies of the transport of protein to nerve endings.
J. Neurochem. **15** (4): 343– , '68.

366. Cort, J. H., et al.
Effects of 'hormonogen' forms of neurohypophysial peptides in hemorrhagic shock in dogs.
Am. J. Physiol. **214** (3): 455– , '68.

367. Harrington, A. R. & Valtin, H.
Imparred urinary concentration after vasopressin and its gradual correction in hypothalamic diabetes inspidus.
J. Clin. Invest. **47** (3): 502– , '68.

368. Herschkowitz, N., et al.
Studies of water soluble lipoproteins in rat brain.
J. Neurochem. **15** (3): 161– , '68.

369. Hydén, H. & Lange, P. W.
Protein synthesis in the hippocampal pyramidal cells of rats during a behavioral test.
Science **159** (3821): 1370– , '68.

370. Kessler, D., et al.
Some conformation and immunological properties of a bovine brain acidic protein (S-100).
Biochemistry **7** (2): 758– , '68.

371. Kibler, R. F. & Shapira, R.
Isolation and properties of an encephalitogenic protein from bovine, rabbit, and human central nervous system tissue.
J. Biol. Chem. **243** (2): 281– , '68.

372. Lees, M. B.
Effect of ion removal on the solubility of rat brain proteins in chloroform-methanol mixtures.
J. Neurochem. **15** (3): 153– '68.

373. Matheson, D. F.
Incorporation of [^{14}C] glycine into protein of the adult rat peripheral nerve: effects of inhibitors.
J. Neurochem. **15** (3): 179– , '68.

374. Moore, B. W., et al.
Assay and regional distribution of a soluble protein characteristic of the nervous system.
J. Neurochem. **15** (4): 265– , '68.

375. Schenkein, I., et al.
Nerve growth factor of very high yield and specific activity.
Science **159** (3815): 640– , '68.

376. Simon, L. N., et al.
Ribaminol: enhancement of brain protein synthesis.
Life Sci. **7** (2): 15– , '68.

377. Tourtellotte, W. W.
Subacute sclerosing panencephalitis: Brain immunoglobulin-G, measles antibody and albumin.
Neurology **18** (1 pt. 2): 117–21, '68.

VI. Nucleic Acids & Related Compounds (378-386)

378. Casola, L. & Agranoff, B. W.
Release of RNA from goldfish brain nuclei by sodium dodecyl sulfate.
Biochem. Biophys. Res. Commun. **30** (3): 262– , '68.

379. Ipata, P. L.
Sheep brain 5′-nucleotidase. Some enzymic properties and allosteric inhibition by

nucleotides triphosphates.
Biochemistry **7** (2): 507– , '68.

380. Kuperman, A. S., et al.
Nucleotide action on spontaneous electrical activity of clacium deficient nerve.
J. Cell Physiol. **70** (3): 257– , '67.

381. Pasquini, J. M., et al.
Hormonal regulation of brain development I. The effect of neonatal thyroidectomy upon nucleic acids, protein and two enzymes in developing cerebral cortex and cerebellum
Brain Res. **6** (4): 621–34, '67.

382. Simon, G., et al.
Conversion of glutamate into aspartate in guinea-pig cerebral-cortex slices.
Biochem. J. **107** (1): 109– , '68.

383. Simon, L. N. & Glasky, A. J.
Magnesium pemoline: enhancement of brain RNA synthesis *in vitro*.
Life Sci. **7** (4): 197– , '68.

384. Vesco, C. & Giuditta, A.
Disaggregation of brain polysomes induced by electroconvulsive treatment.
J. Neurochem. **15** (2): 81– , '68.

385. Williams, S., et al.
The effect of β,β'-iminodipropionitrile and anaesthesia on some adenine nucleotides of rat brain and retina.
J. Neurochem. **15** (3): 227– , '68.

386. Wong, K. P. & Sourkes, T. L.
Uridine nucleotides in brain.
J. Neurochem. **15** (3): 201– , '68.

VII. Lipids, Steroids & Related Compounds (387-420)

387. Bagshawe, K. D., et al.
Relationship between concentrations of human chorionic gonadotropin in plasma and cerebrospinal fluid.
Nature **217** (5132): 950– , '68.

388. Burton, R. M. & Howard, R. E.
Gangliosides and acetylcholine of the central nervous system. VIII, Role of lipids in the binding and release of neurohormones synaptic vesicles.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 411–32, '67.

389. Cherayil, G. D.
Fatty acid composition of brain glycolipids in Alzheimers' disease, senile dementia, and cerebrocortical atrophy.
J. Lipid Res. **9** (2): 207– , '68.

390. Condrea, E. & Rosenberg, P.
Demonstration of phospholipid splitting as the factor responsible for increased permeability and block of axonal conduction induced by snake venom. II. Study on squid
Biochim. Biophys. Acta **150** (2): 271– , '68.

391. Cumings, J. N., et al.
Sphingolipids and phospholipids in microsomes and myelin from normal and pathological brains.
J. Neurochem. **15** (3): 243– , '68.

392. D'Adamo, A. F., Jr. & D'Adamo, A. P.
Acetyl transport mechanisms in the nervous system. The oxoglutarate shunt and fatty acid synthesis in the developing rat brain.
J. Neurochem. **15** (4): 315– , '68.

393. Domonkos, J. & Heiner, L.
Decomposition of phospholipids during Wallerian degeneration.
J. Neurochem. **15** (2): 87– , '68.

394. Domonkos, J. & Heiner, L.
On the possibility of lysophosphatide formation during Wallerian degeneration.
J. Neurochem. **15** (2): 93– , '68.

395. Eng, L. F. & Noble, E. P.
The maturation of rat brain myelin.
Lipids **3** (2): 157–62, '68.

396. Fraschimi, F., et al.
Brain receptors sensitive to indole compounds: functions in control of luteinizing hormone secretion.
Science **159** (3819): 1104– , '68.

397. Freysz, L., et al.
Distribution quantitative des divers phospholipides dans les neurones et les cellules gliales isoles du cortex cerebral de rat adulte.
J. Neurochem. **15** (4): 307– , '68.

398. Hedge, G. A. & Smelik, P. G.

Corticotropin release: inhibition by intrahypothalamic implantation of atropine.
Science **159** (3817): 891– , '68.

399. Ingenito, A. J.
Norepinephrine levels in various areas of rat brain during cold acclimation.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **127** (1): 74– , '68.

400. Kai, M., et al.
The diphosphoinositide kinase of rat brain.
Biochem. J. **106** (4): 791– , '68.

401. Klenk, E. & Naoi, M.
Über eine Komponente des Gemisches der Gehirnganglioside, die durch-Neuraminidase-einwirkung in das Tay-Sachs-Gangliosid übergeht.
Hoppe-Seglers Z. Physiol. Chem. **349** (3): 288– , '68.

402. Kreps, E., et al.
Phospholipids in the nervous system of molluscs.
J. Neurochem. **15** (4): 285– , '68.

403. Lapetina, E. G. & De Robertis, E.
Action of Triton X-100 on lipids and proteolipids of nerve-ending membranes.
Life Sci. **7** (4): 203– , '68.

404. Liuzzi, A. & Foppen, F. H.
Sterol-like compound from sensory ganglia. Effect of a nerve growth factor and insulin on its biosynthesis.
Biochem. J. **107** (2): 191– , '68.

405. Lou, H. O. C. & Clausen, J.
Polar lipids of oligodendrogliomas.
J. Neurochem. **15** (3): 263– , '68.

406. Martensson, E. & Kanfer, J.
The conversion of L-glycerol-^{14}C 3-phosphate into phosphatidic acid by a solubilized preparation from rat brain.
J. Biol. Chem. **243** (3): 497– , '68.

407. Muller, P. & Rudin, D. O.
Action potentials induced in biomolecular lipid membranes.
Nature **217** (5130): 713– , '68.

408. Oppenheimer, D. R., et al.
Histological and chemical findings in juvenile Niemann-Pick disease.
J. Neurol. Sci. **5** (3): 575–88, '67.

409. Reiter, R. J., et al.
Pineal-induced ovarian atrophy in rats treated neonatally with testosterone.
Life Sci. **7** (5): 299– , '68.

410. Salway, J. G., et al.
Enzymes of phosphoinositide metabolism during rat brain development.
J. Neurochem. **15** (3): 221– , '68.

411. Sandhoff, K., et al.
Deficient hexosaminidase activity in an exceptional case of Tay-Sachs disease with additional storage of kidney globoside in visceral organs.
Life Sci. **7** (6): 283– , '68.

412. Saraswathi, S. & Bachhawat, B. K.
Role of neuraminic acid in the heterogeneity of alkaline phosphatase in sheep brain.
Biochem. J. **107** (2): 185– , '68.

413. Sharma, S. K. & Krishna Murti, C. R.
Production of lipid peroxides by brain.
J. Neurochem. **15** (2): 147– , '68.

414. Sheltawy, A. & Dawson, R. M. C.
On the phosphatidic acid of myelin.
J. Neurochem. **15** (2): 144– , '68.

415. Stitt, S. L. & Kinnard, W. J.
The effect of certain progestins and estrogens on the threshold of electrically induced seizure patterns.
Neurology **18** (3): 213– , '68.

416. Suzuki, K.
Cerebral G_{M1}-gangliosidosis: chemical pathology of visceral organs.
Science **159** (3822): 1471– , '68.

417. Svennerholm, L., et al.
Changes in the fatty acid composition of cerebrosides and sulfatides of human nervous tissue with age.
J. Lipid Res. **9** (2): 215– , '68.

418. Thesleff, S. & Albuquerque, E. X.
The cholinergic receptor systems of denervated striated muscle and the intergration with phospholipid molecules.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 534–42, '67.

419. Weber, M. B.
A study of brain lipids, nucleic acids and proteins in the ataxic (ax^J) mouse.
Neurology **18** (3): 243– , '68.

420. White, H. B., Jr. & Smith, R. R.
Cholesteryl esters of the glioblastoma.
J. Neurochem. **15** (4): 293– , '68.

VIII. Biogenic Amines (421-455)

421. Anton-Tay, F. & Wurtman, R. J.
Norepinephrine: turnover in rat brains after gonadectomy.
Science **159** (3820): 1245– , '68.

422. Bhagat, B., et al.
The effects of nicotine and other drugs on the release of injected ^{3}H-norepinephrine and on endogenous norepinephrine levels in the rat brain.
Europ. M. Pharmacol. **2** (3): 235– , '68.

423. Bloom, F. E. & Aghajanian, G. K.
An electron microscopic analysis of large granular synaptic vesicles of the brain in relation to monoamine content.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **159** (2): 261– , '68.

424. Bloom, F. E. & Barrnett, R. J.
The fine structural localization of cholinesterase in nervous tissue.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 626–45, '67.

425. Branerjee, U., et al.
Effect of temperature of 5-hydroxytryptamine injected into the cerebral ventricles of cats.
J. Physiol. **195** (1): 245– , '68.

426. Clarke, D. E. & Leach, G. D. H.
The influence of bretylium on the interactions of infused sympathomimetic amines and tyramine in the reserpine-treated pithed rat.
Brit. J. Pharmacol. **32** (2): 392–401, '68.

427. Cunningham, D. J., et al.
Responses of neurons in the preoptic area to temperature, serotonin, and epinephrine.
Am. J. Physiol. **213** (6): 1570– , '67.

428. Daiz, P. M., et al.
Effect of oxygen on brain serotonin metabolism in rats.
Am. J. Physiol. **214** (3): 591– , '68.

429. Dettbarn, W.-D.
The acetylcholine system in peripheral nerve.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 483–503, '67.

430. Fuxe, K., et al.
The effect of β-phenylethylamine on central and peripheral monoamine-containing neurons.
Europ. J. Pharmacol. **2** (3): 202– , '68.

431. Gal, E. M. & Millard, S. A.
Studies on the metabolism of 5-hydroxytryptamine (serotonin) V. Reserpine-induced sedation without depletion of cerebral 5-hydroxytryptamine.
Life Sci. **7** (3): 224– , '68.

432. Gessa, G. L., et al.
Effect of 1,4-butanediol and other butyric acid congeners on brain catecholamines.
Life Sci. **7** (5): 289– , '68.

433. Holmstedt, B.
Mobilization of acetylcholine by cholinergic agents.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 433–58, '67.

434. Honig, C. R.
Depression of myosin B by catecholamine analogs: mechanism and *in vivo* significance.
Am. J. Physiol. **214** (2): 357– , '68.

435. Hubbard, J. I., et al.
The relationship between the state of nerve-terminal polarization and liberation of acetylcholine.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 459–70, '67.

436. Kerkut, G. A., et al.
The effects of histamine and other naturally accurring imidazoles on neurones of helix aspersa.
Brit. J. Pharmacol. **32** (2): 241–52, '68.

437. Kopin, I. J.
Acetylcholine, bretylium and release of norepinephrine from sympathetic nerve endings.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 558–62, '67.

438. Lindmar, R., et al.
A muscarinic mechanism inhibiting the release of noradrenaline form adrenergic nerve fibres by nicotimic agents.
Brit. J. Pharmacol. **32** (2): 280–94, '68.

439. Manshardt, J. & Wurtman, R. J.
Daily rhythm in the noradrenaline content

of rat hypothalamus.
Nature **217** (5128): 574– , '68.

440. Michaelson, I. A.
The subcellular distribution of acetylcholine, choline acetyltransferase, and acetyl cholinesterase in nerve tissue.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 387–410, '67.

441. Mueller, R. A. & Shideman, F. E.
The prolongation of reserpine-induced cardiac norepinephrine depletion by metabolic inhibitors.
Biochem. Pharmacol. **17** (3): 451– , '68.

442. Nielson, H. C. & Fleming, R. M.
Effects of electroconvulsive shock and prior stress on brain amine levels.
Exp. Neurol. **20** (1): 21– , '68.

443. Poirier, L. J., et al.
Effect of amine precursors on the concentration of striatal dopamine and serotonin in cats with and without unilateral brain stem lesions.
Brain Res. **6** (4): 654–66, '67.

444. Poschel, B. P. H. & Ninteman, F. W.
Excitatory effects of 5-HTP on intracranial self-stimulation following MAO blockade.
Life Sci. **7** (5): 317– , '68.

445. Ritchie, J. M.
On the role of acetylcholine in conduction in mammalian non-myelinated nerve fibers.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 504–16, '67.

446. Sato, M., et al.
The ionic permeability changes during acetylcholine-induced responses of Aplysia ganglion cells.
J. Gen. Physiol. **51** (3): 321– , '68.

447. Schanberg, S. M., et al.
Metabolism of normetanephrine-^{3}H in rat brain—identification of conjugated 3-methoxy-4-hydrophenylglycol as the major metabolite.
Biochem. Pharmacol. **17** (2): 247– , '68.

448. Sedvall, G. C., et al.
The rate of norepinephrine synthesis measured *in vivo* during short intervals; influence of adrenergic nerve impulse activity.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **159** (2): 274– , '68.

449. Simpson, L. L.
Effects of intraperitoneally injected botulinum toxin on rat cerebral cortex levels of acetylcholine.
J. Neurochem. **15** (4): 359– , '68.

450. Tebecis, A. K.
Are 5-hydroxytryptamine and noradrenaline inhibitory transmitters in the medial geniculate nucleus?
Brain Res. **6** (4): 780–2, '67.

451. Valzelli, L. & Garattini, S.
Biogenic amines in discrete brain areas after treatment with monamineoxidase inhibitors.
J. Neurochem. **15** (3): 259– , '68.

452. Waldeck, B.
On the interaction of threo-^{3}H-α-methylnoradrenaline with the uptake and storage mechanisms of the adrenergic neuron.
Europ. J. Pharmacol. **2** (3): 208– , '68.

453. Weiner, N. & Rabadjija, M.
The effect of nerve stimulation on the synthesis and metabolism of norepinephrine in the isolated guinea-pig hypogastric nerve-vas deferens preparation.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **160** (1): 61– , '68.

454. Wesemann, W. & Zilliken, F.
Receptors of neurotransmitters—III. Comparison of the 5-hydroxytryptamine receptor of the liver fluke, Fasciola hepatica, and the rat stomach-fundus.
Biochem. Pharmacol. **17** (3): 471– , '68.

455. Wurzel, M.
The physiological role of cholinesterase at cholinergic receptor sites.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 694–704, '67.

IX. Neuro- & Psychotropic Drugs (456-491)

456. Albuquerque, E. X. & Grampp, W.
Effects of tetrodotoxin on the slowly adapting stretch receptor neurone of lobster.
J. Physiol. **195** (1): 141– , '68.

457. Baxter, B. L.
The effect of selected drugs on the "emotional" behavior elicited via hypothalamic stimulation.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 47–54, '68.

458. Blakeley, A. G. H. & Brown, G. L.
Effects of an anticholinesterase on the transmitter overflow and the response of the spleen to nerve stimulation.
J. Physiol. **194** (2): 71P– , '68.

459. Blaustein, M. P.
Barbiturates block sodium and potassium conductance increases in voltage-clamped lobster axons.
J. Gen. Physiol. **51** (3): 293– , '68.

460. Blaustein, M. P.
Action of certain tropine esters on voltage-clamped lobster axon.
J. Gen. Physiol. **51** (3): 309– , '68.

461. Boissier, J. R., et al.
Flurothyl in mice: seizure, post-convulsive behavior, and interactions with psychotropic drugs.
Can. J. Physiol. Pharmacol. **46** (1): 93–100, '68.

462. Booth, D. A.
Amphetamine anorexia by direct action on the adrenergic feeding system of rat hypothalamus.
Nature **217** (5131): 869– , '68.

463. Brimblecombe, R. W. & Green, D. M.
The peripheral and central actions of some anticholinergic substances.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 15–21, '68.

464. Carlsson, A., et al.
Effect of desmethylimipramine, protriptyline and (+)-amphetamine on fluorescence of central adrenargic neurons of rats pretreated with α-methyl-DOPA and tetrabenazine or reserpine.
Europ. J. Pharmacol. **2** (3): 196–, '68.

465. Clark, M. L., et al.
Evaluation of trifluperidol in chronic schizophrenia.
Psychopharmacologia **12** (3): 193– , '68.

466. Coldwell, B. B. & Peters, J. M.
Sleeping time and mortality of rats administered acetylsalicylic acid and barbiturates.
Can. J. Physiol. Pharmacol. **46** (1): 47–52, '68.

467. Del Castillo, J., et al.
Pharmacological studies on an artificial transmitter-receptor system.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 803–18, '67.

468. DiMascio, A., et al.
Effects of imipramine on indivisuals varying in level of depression.
Am. J. Psychiat. **124** (8) suppl. 55– , '68.

469. Gebber, G. L.
Dissociation of depolarization and ganglionic blockade induced by nicotine.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **160** (1): 124– , '68.

470. Hammer, W., et al.
Drug-induced changes in brain levels of oxotremorine in mice.
Life Sci. **7** (3): 205– , '68.

471. Hollis, J. H.
Chlorpromazine: direct measurement of differential behavioral effect.
Science **159** (3822): 1487– , '68.

472. Korein, J. & Musacchio, J. M.
LSD and focal cerebral lesions: behavioral and EEG effects in patients with sensory defects.
Neurology **18** (2): 147– , '68.

473. Kostowski, W. & Gumulka, W.
Note on the ganglionic and central actions of galantamine.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 7–14, '68.

474. Kostowski, W. & Meszaros, J.
Pharmacological analysis of bioelectrical activity of the central nervors system of amphibia. I. The effect of some cholinergic and anticholinergic drugs on the frogs EEG.
Brain Res. **6** (4): 783–5, '67.

475. Maickel, R. P.
Diverse central effects of chlorpromazine.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 23–7, '68.

476. Marcus, F. I., et al.
The effect of reserpine on the metabolism of tritiated digoxin in the dog and in man.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **159** (2): 314– , '68.

477. Montagu, J. D.
The effect of D-amphetamine on the EEG

response to flicker in man.
Europ. J. Pharmacol. **2** (4): 295– , '68.

478. O'Neal, R. M., et al.
The 'neurotoxicity' of L-2,4-diaminobutyric acid.
Biochem. J. **106** (3): 699– , '68.

479. Pirch, J. H. & Rech, R. H.
Effect of isolation on α-methyltyrosine-induced behavioral depression.
Life Sci. **7** (3): 173– , '68.

480. Proctor, C. D., et al.
Effect of hallucinogenic anticholinergic agents on d-amphetamine toxicity for aggregated mice.
Brain Res. **6** (4): 647–53, '67.

481. Rajalakshmi, R. & Patel, A. J.
Effect of tranquilizers on regional distribution of ascorbic acid in the rat brain.
J. Neurochem. **15** (3): 195– , '68.

482. Rockwell, D. A.
Amphetamine abuse by hospitalized chronic schizophrenic patients.
Brit. J. Psychiat. **114** (507): 239– , '68.

483. Rozear, M., et al.
Effects of intracerebroventricular l-hyoscyamine, ethylbenztropine and procaine on cardiac arrhythmias induced in dogs by pentylenetetrazol, picrotoxin or deslanosides.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 1–6, '68.

484. Schallek, W., et al.
Power spectrum analysis as a tool for statistical evaluation of drug effects on electrical activity of brain.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 35–46, '68.

485. Schiorring, E. & Randrup, A.
"Paradoxical" stereotyped activity of reserpinized rat.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 71–3, '68.

486. Squires, R. F. & Lassen, J. B.
Some pharmacological and biochemical properties of γ-morpholino-butyrophenone (NSD2023), a new monoamine oxidase inhibitor.
Biochem. Pharmacol. **17** (3): 369– , '68.

487. Standaert, G. F. & Ricker, W. F., Jr.
The consequences of cholinergic drug actions on motor nerve terminals.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **144** (2): 517–33, '67.

488. Steiner, F. A. & Hummel, P.
Effects of nitrazepam and phenobarbital on hippocampal and lateral geniculate neurones in the cat.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 61–9, '68.

489. Tews, J. K., et al.
Effects of β,β′-iminodipropionitrile on cerebral constituents and on cortical electroical activity.
Intern. J. Neuropharmacol. **7** (1): 29–34, '68.

490. Usubiaga, J. E. & Standaert, F.
The effect of local anesthetics on motor nerve terminals.
J. Pharmacol. Exp. Therap. **159** (2): 353– , '68.

491. Warkany, J. & Takas, E.
Lysergic acid diethylamide (LSD): no tetratogenicity in rats.
Science **159** (3816): 731– , '68.

X. Subcellular Units (492-497)

492. Beattie, D. S. & Basford, R. E.
Sodium-stimulated adenosine triphosphatase activity of rat brain mitochondria.
J. Neurochem. **15** (4): 325– , '68.

493. Formby, B. & Clausen, J.
Phosphatase activity in particulate fractions of rat brain.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. **349** (3): 349– , '68.

494. Robinson, D., et al.
Subcellular distribution and properties of rat brain stem tryptophan hydroxylase.
Arch. Biochem. Biophys. **123** (2): 419 , '68.

495. Sullivan, R. J., et al.
Adenosine triphosphate: creatine phosphotransferase of rat cerebral cortex: Evidence for a bimodal subcellular localization.
J. Neurochem. **15** (2): 115– , '68.

496. Tipton, K. F.
The purification of pig brain mitochondrial monoamine oxidase.

Europ. J. Biochem. 4 (1): 103– , '68.

497. Waksman, A. & Bloch, M.
Identification of multiple forms of amino-butyrate transaminase in mouse and rat brain: Subcellular localization.
J. Neurochem. 15 (2): 99– , '68.

XI. Enzymes & Co-factors (498-514)

498. Barron, K. D. & Bernsohn, J.
Esterases of developing human brain.
J. Neurochem. 15 (4): 273– , '68.

499. Biswas, C. & Talwar, G. P.
Effect of pentamethylene tetrazole (metrazol) on rat brain phosphorylase *in vitro*.
J. Neurochem. 15 (2): 107– , '68.

500. Buckley, G., et al.
Cholinacetylase in innervated and denervated sympathetic ganglia and ganglion cells of the cat.
Acta Physiol. Scand. 71 (4): 348–56, '67.

501. Claybrook, D. L. & Pfiffner, J. J.
Purification and properties of a substance P-inactivating enzyme from bovine brain.
Biochem. Pharmacol. 17 (2): 281– , '68.

502. Cooper, J. R.
The role of thiamine in nervous tissue: The mechanism of action of pyrithiamine. (BBA 25919)
Biochim. Biophys. Acta 156 (2): 368– , '68.

503. De Vellis, J. & Schjeide, O. A.
Time-dependence of the effect of X-irradiation on the formation of glycerol phosphate dehydrogenase and other dehydrogenases in the developing rat brain.
Biochem. J. 107 (2): 259– , '68.

504. Eisen, A. A. & Sherwin, A. L.
Serum creatine phosphokinase activity in cerebral infarction.
Neurology 18 (3): 263– , '68.

505. Garcia Argiz, C. A., et al.
Hormonal regulation of brain development II. Effect of neonatal thyroidectomy on succinate dehydrogenase and other enzymes in developing cerebral cortex and cerebellum
Brain Res. 6 (4): 635–46, '67.

506. Gordon, K., et al.
Histochemical and biochemical study of synaptic lysosomes by mildred.
Nature 217 (5128): 523– , '68.

507. Greenhouse, A. H. & Schneck, S. A.
Subacute necrotizing encephalomyelopathy: a reappraisal of the thiamine deficiency hypothesis.
Neurology 18 (1 pt. 1): 1–8, 46, '68.

508. Hirsch, H. E.
Acid phosphatase localization in individual neurons by a quantitative histochemical method.
J. Neurochem. 15 (2): 123– , '68.

509. Johnson, L. R. & Gubler, C. J.
Studies on the physiological functions of thiamine. III. The phosphorylation of thiamine in brain (BBA 25895).
Biochim. Biophys. Acta 156 (1): 85– , '68.

510. LaBella, F. S. & Shin, S.
Estimation of cholinesterase and choline acetyltransferase in bovine anterior pituitary, and pineal body.
J. Neurochem. 15 (4): 335– , '68.

511. Lodin, Z., et al.
Distribution of some dehydrogenase in the cerebellar cortex.
Nature 217 (5129): 655– , '68.

512. Somogyi, J.
The effect of proteases on the $(Na^+ + K^+)$-activated ATPase system of rat brain (BBA 65694).
Biochim. Biophys. Acta 151 (2): 421– , '68.

513. Verity, M. A. & Brown, W. J.
Structured-linked activity of lysosomal enzymes in the developing mouse brain.
J. Neurochem. 15 (2): 69– , '68.

514. Waksman, A., et al.
Localization of γ-aminobutyric-α-oxoglutaric acid transaminase in mouse brain.
J. Neurochem. 15 (4): 351– , '68.

XII. Metabolism (515)

515. Swan, H., et al.
Anti-metabolic extract from the brain of Protopterus aethiopicus.
Nature **217** (5129): 671– , '68.

正　誤　表

神経化学文献 Vol. 6, Nos. 3/4, 1967

頁	文献番号	誤	正
150	681	……in vivo.	in vivo oxytocic activity of neurohypophysial hormones
152	709	**17**(3) : 223–6, '67	**17**(3) : 223–6, 274, '67
〃	720	**69**(suppl. 284) : 22– ,	**69**(suppl. 284) : 22 pp.
154	749	**102**(2) : 20–21, '67	**102**(2) : 20 p–21 p, '67
〃	759	**102**(2) : 15–16, '67	**102**(2) : 15 p–16 p, '67
155	771	**190**(2) : 39–40, '67	**190**(2) : 39 p–40 p, '67
〃	777	**102**(2) : 15– , '67	**102**(2) : 15 p., '67
〃	782	**102**(2) : 16–17, '67	**102**(2) : 16 p–17 p, '67
156	808	**188**(2) : 21–22, '67	**188**(2) : 21 p–22 p, '67
157	822	**102**(2) : 21–22, '67	**102**(2) : 21 p–22 p, '67
158	831	**102**(2) : 14, '67	**102**(2) : 14 p., '67
159	860	**102**(2) : 17–18, '67	**102**(2) : 17 p–18 p, '67
〃	866	102(2) : 18, '67	**102**(2) : 18 p., '67
161	892	**102**(2) : 13–14, '67	**102**(2) : 13 p–14 p, '67
〃	897	**102**(2) : 19–20, '67	**102**(2) : 19 p–20 p, '67
〃	902	Lipid Res.	J. Lipid Res.
〃	908	**102**(2) : 18–19, '67	**102**(2) : 18 p–19 p, '67
162	910	**103**(1) : 15, '67	**103**(1) : 15 p., '67
〃	913	(GMT–gangliosidosis)	(G_{M_1}–gangliosidosis)
163	929	**189**(1) : 27–28, '67	**189**(1) : 27 p–28 p, '67
164	955	**10**(4) : 28997, '67	**10**(4) : 287–97, '67
165	968	**189**(2) : 57–58, '67	**189**(2) : 57 p–58 p, '67
166	987	**188**(2) : 27–28, '67	**188**(2) : 27 p–28 p, '67
〃	1002	**189**(1) : 38, '67	**189**(1) : 38 p., '67
167	1011	Azcurra, J. M & Robertis, E. de.	Azcurra, J.M. & De Robertis, E.
〃	1016	188(2) : 52–53, '67	88(2) : 52 p–53 p, '67
〃	1019	**6**(62)	**6**(2)
169	1056	**189**(1) : 15–17, '67	**189**(1) : 15 p–17 p, '67
170	1065	**189**(1) : 20–22, '67	**189**(1) : 20 p–22 p, '67
171	1090	……brain microsomes.	……brain microsomes and co-operative interactions with the enzymes.
〃	1093	……synthesis.	……synthesis from acetate and citrate in homogenates and nerve-ending fractions.
〃	1094	**102**(2) : 21, '67	**102**(2) : 21 p, '67
172	1098	**103**(2) : 47–48, '67	**103**(2) : 47 p–48 p., '67
〃	1102	**102**(2) : 20, '67	**102**(2) : 20 p, '67
〃	1109	**103**(2) : 40–41, '67	**103**(2) : 40 p–41 p., '67
173	1127		Nature **213**(5077)721., '67

DEVELOPING BRAIN

No. 26 April, 1968

MEETINGS:

An International Symposium on Postnatal Development of Phenotype was held September 18–22, 1967 at the Castle of Liblice, Czechoslovakia under the auspices of the Czechoslovakian Academy of Science. The report of the meeting prepared by Dr. J. P. Scott is given in SCIENCE, Volume 159, page 658. Many papers relating to the developing brain were presented at this meeting.

An International Symposium on Aggressive Behaviour stressing biochemistry, pharmacology, psychology and sociology will be held in Milan, Italy May 2–4, 1968. Further information can be obtained from: Dr. A. G. Karczmar, Chairman and Director, Institute for Mind, Drugs and Behavior, Department of Pharmacology, Loyola University, Stritch School of Medicine, Hines, Illinois; Dr. P. H. Klopfer, Associate Professor of Zoology and Director, Institute of Animal Behavior, Duke University, Durham, North Carolina; Dr. E. B. Sigg, Hoffman-La Roche Pharmaceutical Company, Nutley, New Jersey and Dr. B. L. Welch, Memorial Research Center, University of Tennessee, Knoxville, Tennessee.

The C.I.O.M.S. under the joint auspices of W.H.O. and UNESCO has again published a calendar of the meetings to take place in 1968 as well as preliminary notices of meetings planned for 1969, etc. These calendars can be obtained by writing to C.I.O.M.S., 6 rue Franklin, 75-Paris 16e, France.

NEW BOOKS:

"The Mind: Biological Approaches to its Functions" W. C. Corning and M. W. Balaban, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1968.

NEW ADDRESS:

Dr. Gilbert W. Meier
Box 86
George Peabody College
Nashville, Tennessee 37203

CURRENT CONTENTS,

10: December 19, 1967

(1) Ekholm, J. Postnatal changes in cutaneous reflexes and in the discharge of cutaneous and articular sense organs. Acta Physiol. Scand., 71: 130, 1967. (2) Jacobsen, J., Brodersen, R. and Trolle, D. Patterns of bilirubin C conjugation in the newborn. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 20:249, 1967. (3) Mac Keith, R. The role of a developmental pediatrics centre. Med. Biol. Illustration, 17:230, 1967. (4) Roux, J. F., Grigorian, A. and Takeda, Y. In vitro "lipid" metabolism in the developing human foetus. Nature, 216:819, 1967.

(5) Try, K. Indications of only a partial defect in the a-oxidation mechanism in Refsum's disease. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 20:255, 1967. (6) Younoszai, M. K., Anderson, D. W., Filer, L. J., Jr. and Fomon, S. J. Urinary excretion of endogenous hydroxyproline by normal male infants. Pediat. Res., 1:266, 1967.

CURRENT CONTENTS,

10: December 26, 1967

(1) Fenart, MM. R. and Destombes, P. Hydrocéphalie expérimentale chez quelques Mammifères, avec orientation "vestibulaire" de la tête. Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. D., 265:924, 1967. (2) Guerra, R. M., Melgar, E. and Villavicencio, M. Alternative pathways of glucose metabolism in fetal rat brain. Biochim. Biophys. Acta, 148: 356, 1967. (3) Milman, L. S. and Yurowitzki, Yu. G. The control of glycolysis in early embryogenesis. Biochm. Biophys. Acta, 148:362, 1967. (4) Perry, T. L., Hansen, S., Tischler, B., Bunting, R. and Berry, K. Carnosinemia: A new metabolic disorder associated with neurologic disease and mental defect. New Eng. J. Med., 277:1219, 1967.

GENERAL REFERENCES:

(1) Anderson, J. A., Bruhl, H., Michaels, A. J. and Doeden, D. Tryptophan oxidation in phenylketonuria. Pediat. Res., 1:372, 1967. (2) Colombo, J. P., Bürgi, W., Richterich, R. and Rossi, E. Congenital lysine intolerance with periodic ammonia intoxication: a defect in L-lysine degradation. Metabolism, 16:910, 1967. (3) Czillik, B., Joó, F., Kása, P., Tomity, I. and Kálmán, Gy. Development of acetylcholinesterase-active structures in the rat archicerebellar cortex. Acta Biol. Hung., 15:11, 1964. (4) De Nelsky, G. Y. and Denenberg, V. H. Infantile stimulation and adult exploratory behaviour in the rat: effects of handling upon visual variation-seeking. Anim. Behav., 15:568, 1967. (5) Duckett, S. and Pearse, A. G. E. The cells of Cajal-Retzius in the developing human brain. J. Anat., 102:183, 1968. (6) Fenart, R. Changements morphologiques de l'encéphale, chez le rat amputé des membres antérieurs. Journal für Hirnforschung, Bd. 8, 5/6:493, 1966. (7) Gosway, S., Bonaventure, N. and Karli, P. Maturation des potentiels évoqués visuels chez le Lapin élevé dans différentes conditions d'éclairement ambiant. C. R. Soc. Biol., 161:921, 1967. (8) Hodson, H. H., Jr., Mesa, V. L. and Van Riper, D. C. Protein requirement of the young, growing chimpanzee. Lab. Animal Care, 17:551, 1967. (9) Hytten, F. E. Water and electrolytes in pregnancy. Brit. Med. Bull., 24:15, 1968. (10) Maruyama, S. and D'Agostino, A. N. Cell necrosis in the central nervous system of normal rat fetuses: an electron microscopic study. Neurology, 17:550, 1967. (11) Bergström, R. M., Pitkanen, T., Erila, T. and Pirskanen, R. EEG and motor disturbances in chickens with malformations induced by teratogenic amino acid leucine. Acta Neurol. Scand., 43:49, 1967. (12) Bergström, R. M. Neurophysiological effects of teratogenic agents in ontogeny. Acta Neurol. Scand., 43:37, 1967. (13) Singh, D., Johnston, R. J. and Klosterman, H. J. Effect on brain enzyme and behaviour in the rat of visual pattern restriction in early life. Nature, 216:1337, 1967. (14) Dickerson, J. W. T. and Walmsley, A. L. The effect of undernutrition and subsequent rehabilitation on the growth and composition of the central nervous system of the rat. Brain, 90:897, 1967. (15) Cuzner, M. L. and Davison, A. N. The lipid composition of rat brain myelin and subcellular fractions during development. Biochem. J., 106: 29, 1968. (16) Herman, R. H. and Zakim, D. The galactose metabolic pathway. Am. J. Clin. Nutr., 21:127, 1968. (17) Culley, W. J. and Mertz, E. T. Effect of restricted food intake on growth and composition of pre-weanling rat brain. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 118:233, 1965. (18) McKhann, G. M. and Ho, W. The *in vivo* and *in vitro* synthesis of sulphatides during development. J. Neurochem., 14:717, 1967. (19) Andersson, H. and Roos, B.-E. Experimental studies on monoamine metabolites in hydrocephalus. Acta Neurol. Scand., 43:72, 1967. (20) Bernhard, C. G., Kolmodin, G. M. and Meyerson, B. A. On the prenatal development of function and structure in the somesthetic cortex of the sheep. In PROGRESS IN BRAIN RESEARCH, Developmental Neurology, C. G. Bernard and J. P. Schade, Eds., 26:60, Elsevier, Amsterdam-London-New York, 1967. (21) Bacon, G. E., Lowrey, G. H. and Carr, E. A., Jr. Prenatal treatment of cretinism: preliminary studies of its value in postnatal development. J. Pediat., 71:654, 1967.

でんどらいと

脳ミクロソーム分画の ATPase の精製の試み

1957 年 J.C. Skou が 神経組織に Mg^{++} と Na^+, K^+ の三者の共存で最大活性を示す Na^+–K^+ATPase を発見し，更に能動輸送の阻害剤である Ouabain がこの酵素を阻害することから膜を介しての Na^+ と K^+ の能動輸送にこの酵素が関与すると報告して以来，この酵素の性質が詳細に調らべられている。しかし，この酵素は非可溶性であることから精製が困難とされていた。

H. McIlwain[1] らは本論文に於て牛脳 cortex microsome の Na^+–K^+ ATPase の精製を目的として，先づその可溶化を尿素と超音波処理法を用い検討した。

先づ尿素の濃度を 2～8 M に上昇させることにより透過度の変化を追求し，3 M で透過度は 50%，8 M で 90% 上昇し，Na^+–K^+ ATPase 活性は尿素濃度を増加するにつれ消失することを観察している。しかし尿素の各濃度に 2.5 mM Na^+ を同時に添加すると透過度は Na^+ 非添加の場合と変らないにも拘らず，Na^+–K^+ ATPase の失活を防いでおり，且つ，此の効果は Na^+–ATPase にのみみられ，Mg^+–或は K^+–ATPase ではみられぬことを報告している。その他透過度を上昇させる disrupting agent，例えば KBH_4，dimethyl sulfoxide 等を用いているが，これらは Na^+–K^+ ATPase の失活をひきおこしている。

一方 6 分間の超音波処理によって標品の透過度は上昇する。超音波処理後，150,000 g×30 min. 超遠沈した上清に 72% 以上の ATPase 活性が存在し，蛋白当りの比活性は 7 倍に増加していることをみている。この比活性は超音波処理の際，Na^+ を添加しても変化がなく，この点が尿素処理と異った点である。更に超音波処理後の上清を 20%～80% の硫安分画により部分的な精製を試みており，比活性は 40% 分画で最も高く約 25 倍あり，著者らは中尾らの NaI 処理と同じ作用で比活性の増加を来たしたと考えている。

Na^+–K^+ ATPase の中間体を acyl phosphate と考え，超音波処理後の上清，30% 硫安分画屑，NaI 処理後，超音波処理をした各々の標品の acetyl phosphatase 活性を各処理前の Ms 分画と比較し，全く同様の活性を示していることから処理によって酵素タンパクが変化したものでなく，部分的な精製が行ないうると考えている。

塚田[2]，平野[3] らも既に超音波処理でこの酵素の可溶化を試み更に Disc 泳動法を用い精製も試みているが，著者らが Mg^+–ATPase と Na^+–K^+ ATPase の関連をいかに考え，この方法をもとにし，ATPase の精製を今後いかに発展させるか興味がもたれる。

1) J.R. Cooper and H. McIlwain: The Sodium-plus-Potassium Ion-Activated Adenosine Triphosphatase of Cerebral Microsomal Fractions: Treatment with Disrupting Agents. Biochem. J. (1967) **102**, 675.

2) 塚田，野口，植村，野村：臓器蛋白質，特に脳蛋白質の抽出分離に関する研究：神経化学 **6**, 3 (1967).

3) Hirano, S., and Yokoi, Y.: Purification of Na, K dependent ATPase in rat brain microsomes. Abstract. V. 7 th International Congress of Biochmistry (Tokyo) p. 916 (I-16), Aug. (1967).

横井　幸雄（東邦大・医・II生理）

DENDRITE

発育期白鼠脳に於ける神経終末部 Na-K ATPase と脳波の出現について

Na-K ATPase は 1957 年 SKOU が始めて crab nerve でその存在を見出して以後，細胞膜を介しての Na^+, K^+ の能動輸送に関与する酵素であろうと云うことで注目されて来た。その後赤血球膜，脳 microsome 分画等あらゆる膜成分での検索がなされ，近年に至り脳の神経終末特に synaptosomal limiting membrane にも Na-K ATPase が高濃度に存在することが報告されている。一方脳の発育に伴う Na-K ATPase 活性の変動についても，白鼠脳では生後 10 日目から 21 日目にかけてその活性は急速に上昇すること，鶏胚では 19 日胚から活性上昇を示し，孵化時には既に成鶏の 80% の活性をもつことが報告されている。又 ABDEL-LATIF らは白鼠脳の神経終末分画の Na-K ATPase は出生直前から出生後 10日目の間に 6 倍もの活性上昇のあることを認めている。

この様に Na-K ATPase 活性の出現は脳の機能発現と極めて密接に関連しているものと考えられ，本文献では白鼠脳の神経終末分画の Na-K ATPase の活性変動とその電顕像の変化並びに脳波の出現時期とを比較検討している。

神経終末分画は粗 mitochondria 分画から Ficoll 密度勾配超遠沈法を用いて分離している。この分画の Na-K ATPase は脳 microsome 分画で得られたものと同様 Mg^{++} 存在下で Na^+, K^+ 両イオンを添加することによって更に活性は上昇し，その上昇は ouabain によって抑えられる。更に神経終末分画を脱イオン水に再びサスペンドし，遠沈後，上清と沈渣の Na-K ATPase 活性を測定してみると，上清部分には全く活性はなく，全ての活性は沈渣に回収され，神経終末分画の Na-K ATPase は膜成分に強く結合しているものと考えられ，KUROKAWA らの報告を支持するものであった。又単位蛋白量当りの Na-K ATPase 比活性と，Mg^{++} ATPase 活性に対する上昇率は胎生 21 日目から出生にかけて急激に上昇し生後 21 日目で成鼠の値に達する。この期間の脳湿重量当りの神経終末分画の蛋白量は日を追って徐々に増加しており，この Na-K ATPase 比活性の増加は神経終末部の急速な成熟によるものと考えられる。このことは電顕像でも認められ，synaptic component は胎生 16 日目より出生後 1 日の間に著明に成熟度を増し，synaptic vesicle の輪郭が鮮明となり，mitochondria も発達して来て Na-K ATPase 活性の変化とよく一致する。一方脳波は出生直後に発現し，生後 1 週間以内にほぼ完成する。

以上の様に神経終末部の Na-K ATPase 活性の急増とその成熟並びに脳波の発現が出生を境として殆んど同時に起ることは極めて興味のあるところであるが，方法の上で二，三の問題があるように思われる。即ち発生段階を異にする脳を用いて全く同じ条件で細胞内分画を行ないこれを同じものとして比較すること，及び未熟脳の電顕標本を作製する場合に固定がむずかしいと云われて居り，成熟脳の固定条件を直ちに未熟脳に用うることも又問題点として残されている。

いずれにせよ，脳の発育段階を生化学的に，組織学的に比較するに当って，これらの基礎的問題をもう一度検討する必要があるものと考える。

A.A. ABDEL-LATIF, J. BRODY and H. RAMAHI: Studies on sodium-potassium adenosine triphosphatase of the nerve endings and appearance of electrical activity in developing rat brain. J. Neurochem. (1967) **14** 1133-1141.

野口　鉄也（慶大・医・生理）

FIRST ANNOUNCEMENT

Second International Meeting of the International Society for Neurochemistry (ISN)

Milan, ITALY September 1–5, 1969

This meeting is open to members of the Society and all other persons interested in neurochemistry.

Communications on original work on any aspect of neurochemistry may be submitted for presentation. Those related to the topics listed below will be especially welcome.

General Themes of the Meeting

Preliminary suggestions include:

1. The biochemistry of peripheral nerve (including axoplasmic flow and transport).
2. The biochemistry of the nervous system during development and maturation.
3. The biochemical aspects of neural excitatory processes (ion pumps and membrane polarization; metabolism, physiological roles and pharmacology of biogenic amines, etc.).

The programme will include specific symposia and general sessions. Presentations will have to be limited to no more than 15 minutes each. Those interested in presenting communications should submit abstracts of no more than 300 words, perferably in English, to one of the under-mentioned Secretaries before March 15, 1969. Abstracts must be accompanied by payment of the registration fee as set out below. If necessary the Programme Committee, composed of: Dr. A. N. Davison, Dr. J. Folch-Pi, Dr. R. Paoletti, Dr. A. Pope and Dr. R. B. Rodnight, reserves the right to select the communications to be presented at the meeting. Communications may be presented in English, French, German or Russian.

Registration Fees: Payable to Prof. R. Paoletti, account No. 3277/1 at the Cassa di Risparmio delle Provincie Lombarde, Agency No. 20, Viale Romagna 20, 20129 Milan, Italy.

ISN Members U.S.$20; Non-members U.S.$25; Affiliates (students and non-professionals) U.S.$10.

Secretaries:

Dr. J. Folch-Pi,
McLean Hospital,
Belmont, Mass. 02178,
U.S.A.

Dr. R. Paoletti,
Institute of Pharmacology,
University of Milan,
Via Vanvitelli 32,
20129 Milan,
ITALY

(Registration forms may be obtained on request from either secretary)

編集後記

やはり2ケ月おくれ位のペースで7巻2号をお届けするはこびとなりました。

今号には「提言」欄に阪大・高次研の佐野教授が執筆されて，大変教訓的なことを述べておられます。物質主義全能のようにみえるこの忙しい現代においても，ときには佐野先生のおっしゃるようなことも考えに浮べて，充分あじわって大いに自己の反省の資にしたいと小生など考えるところです。

今回は岡山大・精神科の二宮氏の原著のほかに昨年開催された第10回日本神経化学会での発表演題の要約と質疑応答のうち，そのIIとして一般演題1番より17番までを収録致しました。続いて演題18番より35番までの分は次号に掲載される予定です。

また，文部省特定研究「脳疾患」のうち，慶大・塚田教授が班長をしている「代謝障害による脳疾患の生化学的研究」——略称「脳疾患の生化学」研究班——による昭和42年度の研究報告が本誌上に掲載されました。多くの場合論文になる以前の速報的な仕事もこの班会議で発表されるので，あるいは参考になるかも知れません。

第II回目の国際神経化学会議が明年，1969年，9月1日より9月5日までイタリアのミラノで PAOLETTI 教授の主催で開催されます。昨年の夏フランスのストラスブールで MANDEL 教授の主催で行なわれた第1回の学会は，世界中から一流の神経化学者たちの参加を得て，おどろくほど盛会だったそうです。このことは学会のことなど含めて，東大・脳研の黒川先生が本誌6巻3/4合併号に「海外だより」として紹介されておられます。

明年のミラノでの学会ではとくに神経化学の分野のなかでもっともおくれているといわれる末梢神経の生化学がとりあげられています。また既に広範な研究が行なわれつつある動物の発生，成熟過程にともなう神経系の生化学的変動の追求といった点も，もう1つの学会の重要課題としてとりあげられています。さらに神経の興奮伝導あるいは伝達に際しての生化学的展望といった点も第三の命題として含まれています。電気生理的にはほぼ確立された興奮伝導理論が，いかなる物質代謝的基礎の上に成立っているか，機能と代謝との有機的結合が切に望まれるところです。

事情の許す限り国際学会に出席して，日本の神経化学のレベル向上のためにも役立っていただける方々の1人でも多いことを望みます。そしてこの国際神経化学会の Official Journal としての Journal of Neurochemistry にも塚田教授のほかにも Editors あるいは Advisory Boad Member を送り込めるようになりたいものです。

「でんどらいと」欄はいかがでしょうか？ 手始めに事務局の近くの方々ばかりに書いてもらいましたが，各大学の研究室での抄録会のまとめなど，どしどし事務局までお送りくださいますようお願い致します。原稿用紙（400 字詰）3～5 枚（簡単な図は入れられます）（図含み）程度のものをお送り下さい。 薄謝を呈します。

最後にまた会員諸氏の積極的なご協力をお願い致します。

（昭和43年4月末　永田記）

「神経化学」投稿規定

1. 神経化学領域の研究報告論文（原著）の投稿をうけつける。神経系の化学的研究に直接貢献する論文をうけつけるほか，臨床報告・短信をも含めて広く神経系の化学に関連の深い論文を歓迎する。
2. 投稿論文の著者はすべて「日本神経化学会」の会員でなければならない。
3. 投稿する原著論文は，他誌に掲載されずまた掲載予定でないものに限る。
4. 投稿論文の送り先：

   東京都新宿区信濃町35
   慶応大学医学部生理学教室内
   日本神経化学会事務局宛

5. 掲載料および別刷料：掲載料は論文の刷り上り4頁(400字詰原稿用紙約15枚に相当）まで無料としそれ以上は著者負担とする。この無料の頁数には，図・表・文献のスペースを含むものとする。なお，第1報，第2報の如く分割して投稿する場合は，編集委員会の判断にもとづき，第2報以下は超過したものとみなし，著者負担とすることがある。

   別刷は50部を単位としてその倍数の申しこみをうけつける。別刷は全部有料（実費）とする。
6. 投稿論文の採否は編集委員会が決定する。受理した論文の体裁がこの規定に従わない部分は編集委員会において訂正することがある。
7. 投稿論文は簡潔な日本語（原則として，常用漢字・現代かなづかい）であって，400字詰原稿用紙に楷書横書としたものでなければならない。
8. 論文の構成（緒言，方法，結果，考察，総括，文献など）は原著論文としての慣例に従うことが望ましい，総括（結論）は論文の最初に掲載し，800字以内のものとする。
9. 表題・著者名・所属には英文・ローマ字書きをそえる。
10. 図および表：図および表は本文と別の用紙に書き，本文中にその掲載位置を明記する。図(および写真)の説明はさらに別の用紙に記載し図の原稿（あるいは写真）に付する。図の原稿は墨で浄書することが望ましいが，縮小率などの関係から編集委員会でトレースし直すことがある。表および図(写真を含む)の組版代などの実費は著者負担とする。
11. 文献：参照文献は本文中には著者名・年号を括弧に入れて示し，本文の最後に一括して著者のABC順に記載する。文献記載の方法は J. Neurochem. の規定に準拠する。
12. 用語および略語：物質名および生化学用語（単位など）の記載のならびに略語の使用は，原則として Biochem. J. の規定に準拠する。薬剤名，慣用の略語を用いるときは，その最初に用いられるところに脚註として説明を加える。

編集委員（ABC順）

石川　晋次　　柿本　泰男　　高坂　睦年　　黒川　正則
成瀬　　浩　　西塚　泰美　　高垣玄吉郎　　高橋　　良
高橋　康夫　　塚田　裕三　　宇尾野公義　　吉田　　博

昭和43年4月27日　印　刷
昭和43年4月30日　発　行

神経化学　Vol. 7, No. 2

編　集　者　（代表）塚　田　裕　三
編　集　所　東京都新宿区信濃町35番地
慶応義塾大学医学部生理学教室内
日　本　神　経　化　学　会
印刷・製本　東　京　プ　レ　ス
発　行　所　東京都文京区曙町11番地
緒　方　書　店

定価1部 300円

神経化学 Vol. 7, No. 2, 1968

目　　次

提　　言：……佐野　勇……63

原　　著：灌流ネコ脳における［U-^{14}C］グルコースの代謝
——機能との相関——……二宮淳明……65

口演要旨：第10回日本神経化学会口演要旨Ⅱ……73

研究班報告：「脳疾患の生化学」研究班報告（昭和42年度）……85

文　　献：Neurochemistry Current Titles……93

雑　　報：Developing Brain……108
「でんどらいと」……横井・野口……110

編集後記：……113