

脳 Glycogen に関する研究

昭和42年2月9日受付

信州大学医学部生化学教室

(主任：藤村紫郎教授)

小 口 真 樹

Studies on the Glycogen of Rat Brain

Masaki Oguchi

Biochemical Institute, Faculty of Medicine, Shinshu University

(Director : Prof. S. Fujimura)

緒 論

脳髄は動物の他の組織と相異し、その呼吸比は常に1.0を保持し、血糖値の低下、酸素供給の不足に鋭敏に反応する等の事実からその糖質代謝は極めて高い重要性を持つている。脳髄の Glycogen 含有量は筋肉及びその他の組織に比して非常に少いこと、又死後の時間経過により著しい変動を示すことによつて、その実体を握むことが困難であつた。Holmes は家兎と猫脳髄の各新鮮材料では Glycogen 量は夫々13及び43mg%と称し^①、Kerr 及び Ghantus は犬、猫及び家兎脳につき70乃至130mg%の値を報告している^②。又 Ghantus、中等は脳 Glycogen は筋肉の如くその変化を証明することは困難で Insulin、葡萄糖の投与及び飢餓等に殆んど影響されることはないと云つている^③。Kerr は Insulin shock により脳 Glycogen 量は低下することを報告し、Ghantus はこの現象は低血糖による Adrenaline 分泌の第2次的影響による現象と見ている。Himwich はこの脳 Glycogen 量の減少は低血糖に対する適応現象と考えている^④。著者は脳 Glycogen の生理的意義を知るため本実験に於いて先ず血糖に影響を及ぼす種々の要因並びに脳の酸素消費量を左右して、その生機作用に大きい影響を与える諸因子が脳 Glycogen 量に如何なる作用を及ぼすかを観察した。

実験の部

1. 実験動物及び実験方法

1) 実験動物

Wister 系ネズミ雄の体重150~200gのものを用いた。

2) 実験方法

血糖値の測定は Hagedorn-Jensen の方法^④で行つた。

脳 Glycogen 量の測定は S. E. Kerr の方法^⑥に準拠した。即ち、断頭後出来る限り早く脳を取り出し、Dry ice で凍結させて細片にした脳を秤量後30% KOH 溶液 2ml を入れた遠心管に取り、沸騰水浴上で30分間加熱して融解させた。これに1.5容の Ethanol を加え放冷後毎分3000廻転遠心沈澱して沈澱を取り、沸騰 Methanol Chloroform 混液(4:1)を加え放冷後遠心した。この操作を数回繰返して沈澱を集め乾燥させた。この残澱に1mlの水を加え懸濁液となし、2N H₂SO₄ 溶液を加え沸騰水浴上で2時間30分加熱水解した。この水解物を0.5N NaOH 溶液で中和後水を加えて25mlとし、濾過後濾液の還元力を Hagedorn-Jensen の方法で測定した。この還元力に水解係数(1.063)を乗じて Glycogen 量とした。

2. 肝、筋、脳 Glycogen の分離及び

夫々の水解曲線とその水解係数

肝、筋、脳 Glycogen を分離し之を懸濁液となし酸を加えて時間を追つて加熱水解を行い、還元力を測定して水解曲線を求めた。一方水解前の Glycogen 量と、その総窒素を測定することにより含有蛋白量を求め、水解が完全に終了した時の平均還元値より水解係数^{⑥⑦}(Glycogen 量を算出するために還元値に乘すべき数)を算出した。

1) 肝、筋 Glycogen の分離^{⑧⑨}

a) 実験方法

ネズミの肝臓及び骨格筋の Homogenate に2倍量の熱水を加え混和後遠心して上清を分離し、残渣に再び2倍量の熱水を加えて上清を集めた。両液を合し40% Trichloroacetic acid を4%になる様に加え、氷室に18時間放置後濾過した。約500mlの濾液に1% Ammonium acetate 数滴^⑩を加えた Ethanol 1.5容を加え遠心して沈澱を取つた。沈澱に水を加え懸濁液となし、1/5容の Chloroform と 1/15容の Isoamyl-

alcohol を加え約15分間混和した後、毎分 3000 廻転1時間遠心し Chloroform の表面に出来た Gel に蛋白質を吸着^⑬させて上清を取った。この操作を数回行い最後に得られた上清に Ethanol を加え沈渣を取り、更に Ethanol で3回洗滌して Glycogen を分離乾燥させた。

2) 脳 Glycogen の分離^⑭

a) 実験方法

500ml の三角フラスコにネズミの脳1gにつき60% KOH 溶液 1ml を加え、沸騰水浴上で融解させ、これに2倍量の Ethanol を加え、更に30分間加熱した。一夜4°C に放置し遠心して上清をすて、沸騰 Methanol-Chloroform 混液 (4:1) で4回洗滌後乾燥させた。乾燥した沈渣を 30% KOH 溶液に加え、3時間加熱後不溶性物質を遠心して除いた。上清に0.5容の Ethanol を加え、沈渣を集めて Ethanol で3回洗滌し、得られた粗製 Glycogen を10ml の水に溶解させたのち Congo-赤の変色点にまで塩酸を加え、更に0.5容の Ethanol を加え、遠心して上清を集めた。之に Ethanol を加えて45%とし、生ずる沈澱を遠心分離した。この沈渣を 4 N NaOH 溶液に溶解させ、0.5容の Ethanol を加え、遠心後沈渣を集めて Ethanol で洗滌した。この沈渣を酸溶液となし、Somogyi の方法^⑮によつて Glycogen を精製した。即ち、沈渣を水に溶解して不溶性物質を濾過して除き、Congo-赤の変色点にまで 2 N HCl 溶液を加え更に0.5容の Ethanol を加え、生じた沈澱を濾過して除いた。濾液に最初の溶液に対して Ethanol が0.8容となる様に加え、一夜放置して沈渣を集めた。前記の操作を3回反復したのち得られた Glycogen を Ethanol と Ether で洗滌後乾燥させた。

3) ネズミ肝, 筋, 脳 Glycogen の

水解曲線及びその水解係数

a) 実験方法

ネズミ肝, 筋, 脳 Glycogen を用い夫々 200mg/dl, 200mg/dl 及び 24.6mg/dl 溶液を調製し、これらの 1ml に 2 N H₂SO₄ 溶液 1ml を加え、沸騰水浴上で夫々 0, 1/2, 1, 2, 3, 4 及び 5 時間加熱水解して 0.5 N NaOH 溶液で中和し水を加えて 25ml となし、濾液の一定量を取り還元力を Hagedorn-Jensen の方法で測定した。

総窒素は Mikro-Kjeldahl 法 (沃度法)^⑯で測定し、6.25を乗じて含有蛋白量とした。

水解係数は次式により計算した。即ち、肝, 筋, 脳 Glycogen の水解係数を夫々 F_L, F_M, F_B とすると、

$$F_L, F_M = \frac{\text{精製肝又は筋 Glycogen} - \text{同含有蛋白量}}{200\text{mg}} \times \text{平均還元値}$$

$$F_B = \frac{\text{精製脳 Glycogen} - \text{同含有蛋白量}}{24.6\text{mg}} \times \text{平均還元値}$$

b) 実験結果

図1に示す如く還元力はいずれも2時間以後は一定を示している。

表1に示した如く水解係数は肝, 筋, 脳 Glycogen ともだいたい近似値を示している。

図1 肝, 筋, 脳 Glycogen の水解曲線

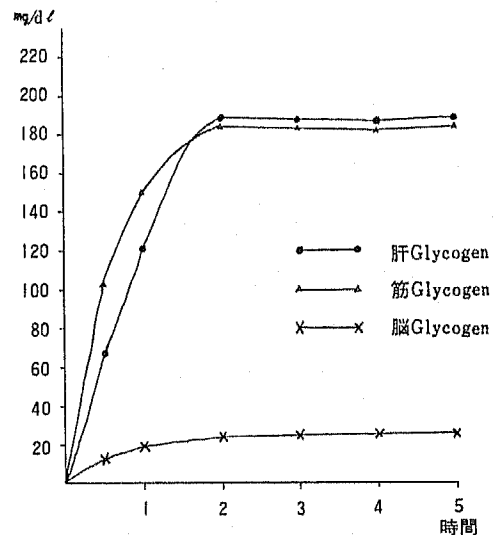


表1 肝, 筋, 脳 Glycogen の総窒素と水解係数

Glycogen	総窒素 %	水解係数
肝	0.078	1.058
筋	0.022	1.093
脳	0.029	1.063

3. 血糖値及び脳 Glycogen 量の

正常値

a) 実験方法

6時間以上絶食させたネズミより心臓穿刺によつて採血し、同時に脳 Glycogen 量を測定した。

b) 実験結果

表2に示す如く血糖値の平均は 114mg/dl であり、脳 Glycogen 量の平均は 111mg% であつた。

表 2 正常ネズミの血糖値及び脳 Glycogen 量

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
2	170	110	99
4	180	115	113
5	170	120	116
6	180	118	112
7	190	124	116
8	180	114	107
10	170	126	111
11	190	112	114
12	190	96	117
13	200	118	105
14	200	102	113
平均値		114	111

4. 膵全摘出による高血糖の
脳 Glycogen 量に及ぼす影響

a) 実験方法

6 時間以上絶食させたネズミを Ether 麻酔の後に膵全摘出^{⑭⑮}を行い、日を追って血糖値への影響を調べた。その結果、膵全摘出 2 日後の高血糖時に血糖値と脳 Glycogen 量を同時に測定した。対照試験としては開腹のみを行ったものにつき測定した。

b) 実験結果

表 3 の如く一般には高血糖を示すが、数日後より血糖値が不安定となる。

表 3 ネズミの血糖値に及ぼす膵全摘出の影響

実験番号	体重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)							
		前	1	2	4	6	8	12	14
24	200	116			110		119		115
25	190	117		126		104		152	
26	220	120		124					
27	200	112				108		129	
28	200	122	132		121		126		
37	180	114	138						111
39	210	117	137		128		118		
42	210	102		114		104		124	
平均値		115	136	121	120	105	121	135	113

表 4 の如く膵全摘出 2 日後の血糖値は増加しており、脳 Glycogen 量も軽度の増加が見られる。

図 2 は以上の結果を示したものである。

5. Insulin 投与による低血糖の
脳 Glycogen 量に及ぼす影響

a) 実験方法

Lente insulin を生理的食塩水を用い、1ml 4 単位含

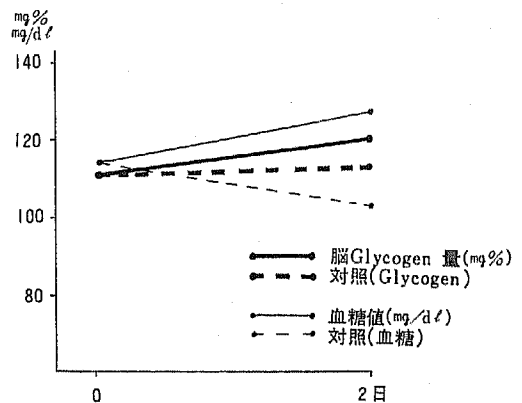
表 4 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす膵全摘出の影響
(膵全摘出 2 日後)

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
43	220	125	—
44	220	127	111
45	200	113	—
46	180	124	122
47	180	117	106
48	190	112	127
49	180	158	110
50	200	127	129
51	200	145	125
52	200	124	135
53	210	119	127
54	190	129	110
平均値		127	120

対 照 試 験

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
138	200	117	114
139	160	97	115
140	200	94	111
平均値		103	113

図 2 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす膵全摘出の影響



有の溶液とし、ネズミの側腹部に体重 100g 当り 1 単位の Insulin^⑯を皮下注射により投与した。投与後経時的に血糖値を測定し、5、10、20 及び 30 時間後に血糖値と脳 Glycogen 量を同時に測定した。

b) 実験結果

表 5 の如く血糖値は注射後 5 時間及び 10 時間に於い

て著明に低下^⑩したことを認めたが、15時間で既に回復している。

表6に示す如く注射後5時間では低血糖と脳Glycogen量の中程度の減少^⑩が見られる。

表7に示した如く10時間後には血糖値と脳Glycogen量は増加の傾向にあるが、なお著明な低血糖と軽度の脳Glycogen量の減少を示している。

表8, 9の如く20, 30時間後には血糖値も脳Glycogen量も正常に戻っている。

図3は以上の結果をまとめたものである。血糖値の

表5 ネズミ血糖値に及ぼす Insulin* の影響

実験 番号	体重 (g)	血 糖 値 (mg/dL)					
		前	5	10	15	20	30
133	200	104	28	41	114	110	105
134	180	125	35	26	116	96	122
135	210	103	27	38	116	116	108
136	200	101	56	23	93	107	76
137	180	119	23	108	105	104	100
平均値	110	34	47	106	107	102	

*: Lente Insulin Toronto
製造元 カナダ・トロント大学コンノート医学研究所

表6 ネズミ脳Glycogen量に及ぼす Insulin の影響 (注射後5時間)

実験 番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳Glycogen量 (mg%)
278	190	44	93
280	180	29	102
281	200	29	79
282	200	26	82
283	180	24	74
284	220	26	89
285	200	28	88
286	200	24	76
287	200	27	80
288	180	29	89
289	200	22	89
平均値		28	86

対 照 試 験

実験 番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳Glycogen量 (mg%)
275	170	108	112
276	190	110	104
277	200	112	108
平均値		110	108

表7 ネズミ脳Glycogen量に及ぼす Insulin の影響 (注射後10時間)

実験 番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳Glycogen量 (mg%)
153	200	82	110
154	210	24	69
155	210	19	95
157	200	19	98
158	220	74	89
159	230	39	97
160	220	93	103
161	230	20	97
162	200	70	101
163	200	98	114
164	200	34	98
平均値		52	97

対 照 試 験

実験 番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳Glycogen量 (mg%)
210	160	89	99
211	180	97	118
212	170	108	107
平均値		98	108

表8 ネズミ脳Glycogen量に及ぼす Insulin の影響 (注射後20時間)

実験 番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳Glycogen量 (mg%)
165	200	104	106
166	200	101	117
167	180	101	93
168	180	69	92
169	180	97	108
170	180	97	109
171	180	97	124
172	210	103	107
173	190	81	109
174	200	95	103
平均値		94	107

対 照 試 験

実験 番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳Glycogen量 (mg%)
201	160	94	110
202	180	93	111
203	150	98	112
平均値		95	111

表 9 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす Insulin の影響 (注射後30時間)

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳 Glycogen 量 (mg%)
177	200	113	108
179	210	86	110
180	200	108	133
181	170	97	109
182	180	93	104
183	200	84	108
184	200	79	93
185	160	93	110
186	180	87	—
187	200	115	106
188	180	66	101

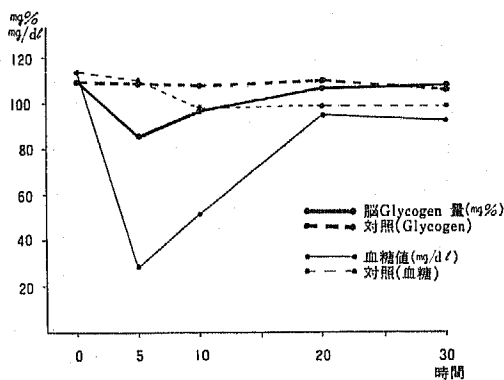
平均値 93 108

対 照 試 験

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳 Glycogen 量 (mg%)
213	180	106	108
214	170	96	104
215	160	96	107

平均値 99 106

図 3 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす Insulin の影響



低下に伴って脳 Glycogen 量は減少し、血糖値が回復すると脳 Glycogen 量も回復している。

6. Adrenaline 投与による高血糖の 脳 Glycogen 量に及ぼす影響

a) 実験方法

生理的食塩水を用い、0.01% Adrenaline 溶液を調製し、6時間以上絶食させたネズミの側腹部に体重 100

gにつき0.05mg^⑩の Adrenaline を皮下注射により投与した。投与後経時的に血糖値を調べ、注射後 4、10及び15時間に血糖値と脳 Glycogen 量を同時に測定した。対照試験として Adrenaline 溶液の代りに生理的食塩水を用いた。

b) 実験結果

表10の如く血糖値は著明に上昇^⑩し、投与後4時間で最高となり10時間で元に戻っている。

表11の如く4時間後には約90%の血糖値の上昇と約

表10 ネズミ血糖値に及ぼす Adrenaline の影響

実験番号	体重 (g)	血 糖 値 (mg/dL)							
		前	1	2	3	4	6	8	10
85	210	103	220	245	280	342	255	154	84
86	210	114	85	203	241	241	220	84	111
87	190	105	219	218	257	257	231	173	120
88	210	109	172	184	214	214	169	92	88
89	220	111	162	181	279	279	201	96	120
90	220	131	198	197	273	273	207	142	110
平均値		112	176	205	257	268	214	124	106

表11 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす Adrenaline の影響 (注射後4時間)

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳 Glycogen 量 (mg%)
109	190	230	129
110	210	237	119
111	220	218	137
112	210	222	134
113	180	198	—
114	200	185	144
115	190	214	147
116	180	244	113
117	190	233	130
118	180	147	164
119	180	233	118
120	180	212	134
平均値		214	134

対 照 試 験

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳 Glycogen 量 (mg%)
147	210	104	117
148	200	99	117
149	210	106	111
平均値		103	115

20%の脳 Glycogen 量の増加が見られる。

表12の如く10時間後の血糖値はほぼ投与前に復するも脳 Glycogen 量は更に増加量を維持している。

表13の如く15時間後の脳 Glycogen 量は減少の傾向を示しているが、尚かなりの高値である。

以上の結果を図4に示したが、血糖値の最高上昇時

表12 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす Adrenaline の影響 (注射後10時間)

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
97	220	111	142
98	200	112	152
99	220	103	171
100	230	151	-
101	190	91	173
102	180	93	151
103	190	112	169
104	240	99	160
105	200	108	147
106	200	104	168
107	180	113	144
108	200	111	145
平均値		109	157

対 照 試 験

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
150	200	115	117
151	200	99	110
152	210	104	110
平均値		106	112

図4 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす Adrenaline の影響

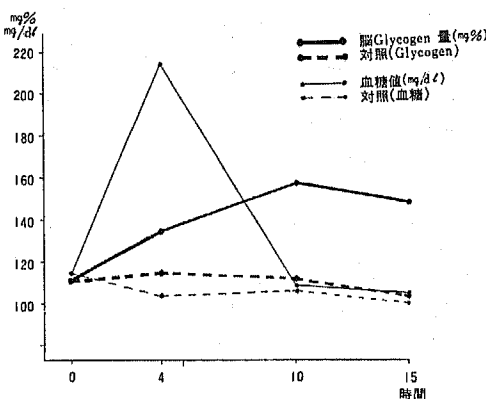


表13 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす Adrenaline の影響 (注射後15時間)

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
121	200	100	180
122	190	92	125
123	200	90	137
124	190	121	-
125	180	111	142
126	200	109	140
127	210	100	169
128	170	94	155
129	190	100	138
130	200	120	156
131	190	109	134
132	190	108	149
平均値		105	148

対 照 試 験

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
204	180	101	107
205	160	103	95
206	180	97	110
平均値		100	104

点より約6時間後に脳 Glycogen 量の最高値が見られ、血糖値より徐々に減少することを示している。

7. Cortex Hormone 投与による 高血糖の脳 Glycogen 量に及ぼす影響

a) 実験方法

生理的食塩水を用い17-Hydroxycorticosterone[®]の100mg/dℓ溶液を調製し、6時間以上絶食させたネズミの腹腔内に体重100gにつき0.3mgの17-Hydroxycorticosteroneを注射した。注射後経時的に血糖値を調べ、5、10及び15時間後の血糖値と脳 Glycogen 量を同時に測定した。対照試験として17-Hydroxycorticosterone溶液の代りに生理的食塩水を用いた。

b) 実験結果

表14の如く血糖値は注射1時間後より上昇し、5時間で最高となり7時間で投与前の値に戻っている。

表15に示す如く5時間後には約33%の血糖値の増加と約13%の脳 Glycogen 量の増加が見られる。

表16の如く投与後10時間の血糖値はほぼ回復してい

るが、脳 Glycogen 量には尚約25%の増加が見られた。

表17に示す如く15時間後の脳 Glycogen 量は正常値に近づいている。

図5は以上の結果を示したものである。血糖値の増加に伴つて脳 Glycogen 量も著明に増加を示しているが、Adrenaline の場合に於ける如く血糖値の最高上

表14 ネズミ血糖値に及ぼす
17-Hydroxycorticosterone* の影響

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)				
		前	1	3	5	7 9
55	180	127	184	230	223	120 124
56	175	121	110	164	131	126 116
57	175	121	88	104	133	98 110
58	160	119	101	102	326	125 115
59	180	110	90	124	142	88 114
60	180	102	130	207	313	131 108
平 均 値	117	117	155	211	115	115

*: Hydrocortone acetate
製造元 万有製薬株式会社

表15 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす
17-Hydroxycorticosterone の影響
(注射後5時間)

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
61	150	132	122
62	155	140	132
63	155	160	116
64	145	190	121
65	150	142	112
66	140	163	134
67	155	176	138
68	155	151	117
69	160	165	125
70	150	143	129
71	165	128	124
72	155	132	—
平 均 値		152	125

対 照 試 験

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
141	210	109	110
142	180	86	114
143	200	99	107
平 均 値		98	110

表16 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす
17-Hydroxycorticosterone の影響
(注射後10時間)

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
73	200	137	170
74	200	87	139
75	165	96	134
76	210	126	139
77	170	109	148
78	160	124	163
79	210	121	156
80	160	117	131
81	180	107	106
82	190	122	120
83	160	89	133
84	180	102	124
平 均 値		111	139

対 照 試 験

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
144	210	113	114
145	180	125	117
146	220	113	112
平 均 値		117	114

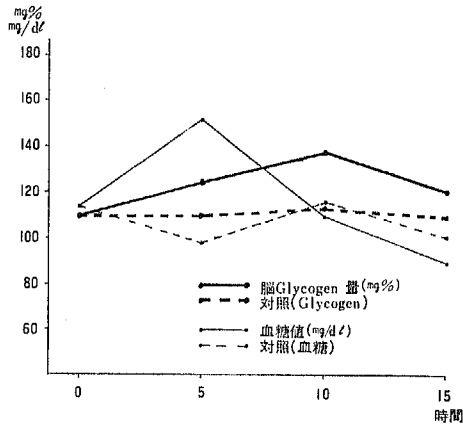
表17 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす
17-Hydroxycorticosterone の影響
(注射後15時間)

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
189	170	121	138
190	180	90	106
191	160	83	129
192	160	82	125
193	180	86	110
194	160	89	126
195	160	108	120
196	185	85	131
197	175	82	130
198	160	85	105
199	200	81	113
200	180	89	121
平 均 値		90	121

対 照 試 験

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)	脳 Glycogen 量 (mg%)
207	150	110	115
208	180	98	113
209	160	94	106
平 均 値		101	111

図5 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす 17-Hydroxycorticosterone の影響



昇時点より約5時間おくられて脳 Glycogen 量の最高値が現われ、その後徐々に減少し始めている。

8. Pyruvic Acid 投与による
高血糖の脳 Glycogen 量に
及ぼす影響

a) 実験方法

Pyruvic acid を水溶液とし 2 N NaOH 溶液で中和後更に水を加えて 4g/dl 溶液を調製した。6時間以上絶食させたネズミの側腹部に体重100g 当り40mg を皮下注射にて投与した。投与後経時的に血糖値を測定し、5、10及び15時間後の血糖値と脳 Glycogen 量を同時に測定した。対照試験として前記の Pyruvic acid 溶液と同量の水を用いた。

b) 実験結果

表18の如く血糖上昇は投与後2時間から5時間に認められ、3時間で最高となつているが軽度である。

表18 ネズミ血糖値に及ぼす Pyruvic acid の影響

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dl)						
		前	1	2	3	5	7	10
216	160	102	111	129	138	91	107	102
217	170	117	106	131	167	92	87	89
218	190	121	118	143	155	113	113	95
219	170	111	114	138	162	114	84	84
220	180	105	120	115	145	107	98	93
平均値	111	114	131	153	103	98	93	

表19に示す如く投与後5時間の血糖値は正常に戻っているが、脳 Glycogen 量は軽度の上昇が見られた。

表20に示す如く此の時脳 Glycogen 量の軽度の増加

表19 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす
Pyruvic acid の影響
(注射後5時間)

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dl)	脳 Glycogen 量 (mg%)
221	200	124	116
222	190	122	108
223	190	104	115
224	200	98	131
225	200	104	104
226	200	107	113
227	190	99	—
228	180	122	114
229	190	109	110
230	180	105	113
231	200	131	111
232	180	107	—
平均値		111	114

対 照 試 験

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dl)	脳 Glycogen 量 (mg%)
257	160	98	114
258	170	99	119
259	200	107	107
平均値		101	113

表20 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす
Pyruvic acid の影響
(注射後10時間)

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dl)	脳 Glycogen 量 (mg%)
233	170	117	122
234	180	98	116
235	180	121	107
236	170	124	121
237	170	103	117
238	180	111	105
239	160	117	99
240	170	138	111
241	150	102	126
242	180	104	120
243	180	100	132
244	160	120	101
平均値		113	115

対 照 試 験

実験 番号	体 重 (g)	血 糖 値 (mg/dl)	脳 Glycogen 量 (mg%)
260	210	96	111
261	200	100	114
262	180	92	110
平均値		96	112

が見られる。

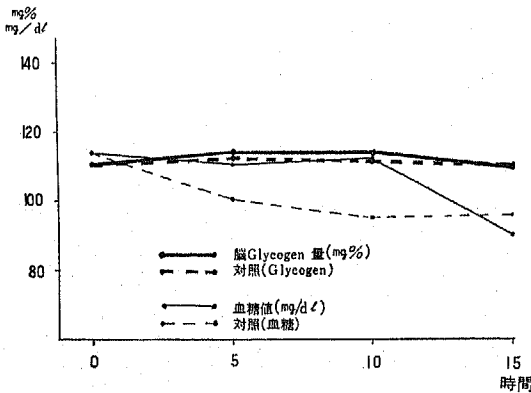
表21に示す如く脳 Glycogen 量は正常値に復している。

図6は以上の結果を示したものである。脳 Glycogen 量は血糖値の上昇に伴って極めて軽度の増加が見られるが、その最高時点は投与後約10時間で血糖値の最高上昇時点より約7時間のおくれが見られた。

表21 ネズミ脳Glycogen量に及ぼす Pyruvic acid の影響 (注射後15時間)

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳Glycogen量 (mg%)
245	180	97	114
246	170	97	116
247	180	83	114
248	190	95	110
249	180	104	113
250	180	105	105
251	190	74	99
252	200	94	104
253	170	88	112
254	180	87	105
256	170	81	117
平均値		91	110
対 照 試 験			
実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dL)	脳Glycogen量 (mg%)
263	150	93	108
264	170	89	115
265	210	109	110
平均値		97	111

図6 ネズミ脳Glycogen量に及ぼす Pyruvic acid の影響



9. 睡眠剤投与の脳 Glycogen 量に及ぼす影響

a) 実験方法

ネズミの体重100gにつき睡眠剤として抱水Chloralを1日2回100mg宛皮下注射, Sulfonal 30mgを経口投与, Amobarbitalを6mg宛1日3回皮下注射にて投与し, 24時間後に於いて脳組織の酸素消費量と共にそのGlycogen量の変化を測定した。組織の酸素消費量は Warburg の Manometer を使用し, その主室に0.8mlの Krebs-Ringer 磷酸緩衝液 (pH7.4) を入れ, 之れに1.0mlの脳組織 Homogenate を加えた。次いでこの全量を蒸留水を以つて2.1mlとした。Center wellに0.1mlの20% KOH 溶液と濾紙小片を入れた。実験は 37.5±0.1°C の恒温槽中にて1分間120回振盪, 振幅70mmの条件で行い10分間毎に気圧の測定を行つた。

b) 実験結果

表22, 23及び24に見られる様に抱水 Chloral, Sulfonal 及び Amobarbital 等の睡眠剤投与によつ

表22 ネズミ脳Glycogen量に及ぼす 抱水 Chloral の影響

実験番号	体重 (g)	脳Glycogen量 (mg%)
523	160	126
524	170	149
525	190	130
526	170	158
527	190	150
528	180	140
529	200	147
530	200	152
平均値		144

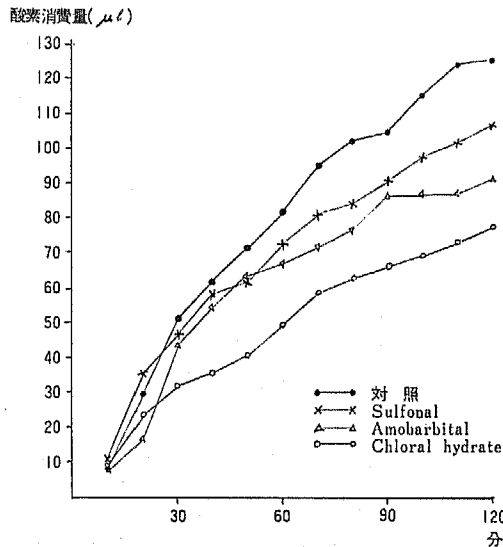
表23 ネズミ脳Glycogen量に及ぼす Sulfonal の影響

実験番号	体重 (g)	脳Glycogen量 (mg%)
531	210	123
532	200	129
533	190	148
534	180	132
535	180	133
536	180	141
537	190	130
538	180	139
平均値		134

表24 ネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす Amobarbital の影響

実験番号	体重 (g)	脳 Glycogen 量 (mg%)
539	190	151
540	180	140
541	170	149
542	190	130
543	190	139
544	180	157
545	190	142
546	160	140
547	180	151
平均値		144

図7 脳組織酸素消費量に及ぼす各種睡眠剤の影響



て脳 Glycogen 量は著明に増加することが分かる。これに反して図7に示す如く、この時の脳組織酸素消費量は対照に比して明らかに低下していることを認める。

10. 甲状腺 Hormone 及び抗甲状腺剤投与のネズミ脳 Glycogen 量に及ぼす影響

a) 実験方法

前実験に於いて睡眠剤による脳組織酸素消費量の低下に反比例して脳 Glycogen 量が上昇することを確認得た。本実験では組織の酸素消費を刺激することの影響を知るために、甲状腺並びに抗甲状腺剤投与の影響を観察した。前者としてはネズミの体重 100g につき Thyradin 20mg を30日間、後者としては Methiocil

20mg を25日間皮下注射し、その翌日脳組織につき実験を行った。

b) 実験結果

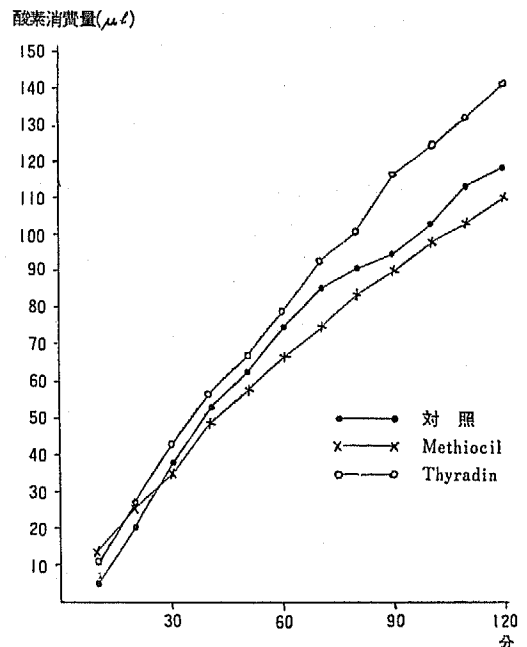
表25, 26及び図8に示した如く、甲状腺剤の投与によつて脳組織の酸素消費量の上昇する時は脳 Glycogen 量は著明に減少を示し、反対に抗甲状腺剤の投与によつて脳組織酸素消費量の減少を起す時には逆に脳 Glycogen 量は明らかに増大するのを認める。

表25 甲状腺剤 (Thyradin*) の脳 Glycogen 量に及ぼす影響

実験番号	体重 (g)	脳 Glycogen 量 (mg%)
548	170	56
549	160	72
550	190	63
551	210	59
552	210	60
553	170	63
554	190	71
555	180	62
556	190	61
平均値		63

*: Thyradin
製造元 帝國薬器製薬株式会社

図8 甲状腺剤 (Thyradin) 及び抗甲状腺剤 (Methiocil*) のネズミ脳酸素消費量に及ぼす影響



*: Methylthiouracil
製造元 中外製薬株式会社

表26 抗甲状腺剤(Methiocil)の脳 Glycogen 量に及ぼす影響

実験番号	体重 (g)	脳 Glycogen 量 (mg%)
557	170	146
558	180	158
559	200	157
560	180	133
561	170	135
562	190	149
563	200	138
564	200	133
平均値		144

11. 頸動静脈血々糖値及び大腿動静脈血々糖値の正常値並びにその差

a) 実験方法

6時間以上絶食させたネズミの頸動脈及び頸静脈より同時に採血し、又同様に大腿動脈及び大腿静脈より同時に採血して、血糖値を測定比較した^{④⑤}。

b) 実験結果

表27に示す如く頸動脈血々糖値の平均は 114mg/dl, 頸静脈血々糖値の平均は 103mg/dl でその差は 11mg/dl であった。

表28に示した如く大腿動脈血々糖値の平均は 113mg/dl, 大腿静脈血々糖値の平均は 104mg/dl でその差は 9mg/dl であった。

12. Insulin 投与による頸動静脈血々糖値と脳 Glycogen 量及び大腿動静脈血々糖値に及ぼす影響

a) 実験方法

生理的食塩水を用い Lente insulin を 1ml 2 単位含有の溶液とし、6時間以上絶食させたネズミの側腹部に体重 100g につき 1 単位^④の Insulin を皮下注射にて投与した。投与 5 時間後の低血糖時に頸動静脈血々糖値^④と脳 Glycogen 量を同時に測定した。又大腿動静脈血々糖値^④も同時に測定した。

b) 実験結果

表29に示す如く頸動脈血々糖値の平均は 23mg/dl, 頸静脈血々糖値の平均は 17mg/dl であった。両者の差は 6mg/dl で正常値に比して軽度の減少が見られる。

脳 Glycogen 量は約 20% の減少を示している。

表30に示す如く大腿動脈血々糖値の平均は 21mg/dl で大腿静脈血々糖値の平均は 19mg/dl であった。両者の差は 2mg/dl であり正常値に比して減少が著明である。Insulin 投与による低血糖時、頸動静脈血々糖値

表27 正常ネズミの頸動静脈血々糖値及びその差

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dl)		
		頸動脈 (a)	頸静脈 (b)	a - b
290	180	115	103	
291	190	117	102	
292	180	113	103	
293	170	104	102	
294	200	122	108	
295	200	107	95	
296	180	133	119	
297	200	107	100	
298	200	108	100	
299	170	110	99	
平均値		114	103	11

表28 正常ネズミ大腿動静脈血々糖値及びその差

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dl)		
		大腿動脈(a)	大腿静脈(b)	a - b
324	190	105	92	
325	190	121	111	
326	170	122	108	
327	180	107	96	
328	200	109	104	
329	210	116	110	
330	160	114	103	
331	170	111	105	
332	180	117	107	
333	170	110	102	
平均値		113	104	9

表29 ネズミの頸動静脈血々糖値とその差及び脳 Glycogen 量に及ぼす Insulin の影響 (注射後 5 時間)

実験番号	体重 (g)	血糖値 (mg/dl)			脳 Glycogen 量 (mg%)
		頸動脈 (a)	頸静脈 (b)	a - b	
314	180	33	21	102	
315	180	22	16	76	
316	180	25	18	62	
317	190	22	18	101	
318	180	23	15	95	
319	200	19	19	82	
320	200	16	11	92	
321	190	26	16	84	
322	170	26	21	97	
323	190	15	13	81	
平均値		23	17	6	87

の差の減少は軽度であるのに対して大腿動静脈血々糖値の差は正常値の1/4以下を示し著明である。

表30 ネズミの大腿動静脈血々糖値及びその差に及ぼす Insulin の影響 (注射後5時間)

実験番号	体重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)		
		大腿動脈(a)	大腿静脈(b)	a - b
334	200	18	17	
335	180	29	26	
336	200	31	28	
337	200	16	14	
338	210	19	14	
339	180	17	16	
340	180	18	15	
341	170	17	14	
342	200	25	23	
343	190	21	20	
平均値		21	19	2

13. Adrenaline 投与による頸動静脈血々糖値と脳 Glycogen 量及び大腿動静脈血々糖値に及ぼす影響

a) 実験方法

生理的食塩水を用い 0.01% Adrenaline 溶液を調製し、6時間以上絶食させたネズミの側腹部に体重100gにつき0.05mg^⑩の Adrenaline を2回(第1回注射3時間後に第2回注射)皮下注射にて投与し、経時的に血糖値を測定した。この結果、最初の注射より6時間後の高血糖時に頸動静脈血々糖値と脳 Glycogen 量を同時に測定し、又大腿動静脈血々糖値と同時に測定した。

b) 実験結果

表31に示す如く最初の注射より6時間後に最高血糖値 256mg/dℓ となり、10時間後に正常値に戻っている。

表31 ネズミの血糖値に及ぼす Adrenaline の影響 (第1回注射3時間後第2回注射)

実験番号	体重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)						
		前	注射後の時間					10
300	200	97	141	232	237	165	102	
311	180	89	172	203	253	78	76	
312	200	91	176	242	279	152	103	
平均値		93	163	226	256	132	94	

表32に示す如く最初の注射より6時間後の頸動脈血

々糖値の平均は 242mg/dℓ、頸静脈血々糖値の平均は 226mg/dℓであり、その差は16mg/dℓである。脳 Glycogen 量の平均も著明な増加を示している。

表33に示す如く、大腿動脈血々糖値の平均は 206mg/dℓ、大腿静脈血々糖値の平均は 196mg/dℓであり、その差は10mg/dℓである。Adrenaline 投与による高血糖時に頸動静脈血々糖値の差は著明に増大するが、大腿動静脈血々糖値の差の増大は認められない。

表32 ネズミの頸動静脈血々糖値とその差及び脳 Glycogen 量に及ぼす Adrenaline の影響 (第1回注射後6時間)

実験番号	体重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)			脳 Glycogen 量 (mg%)
		頸動脈(a)	頸静脈(b)	a - b	
303	190	275	254	146	
304	210	258	242	142	
305	180	212	200	134	
306	200	223	204	148	
307	200	237	223	124	
308	170	219	211	156	
309	200	267	252	139	
310	210	240	222	129	
311	180	230	217	135	
312	190	257	236	156	
313	220	243	229	149	
平均値		242	226	16	142

表33 ネズミの大腿動静脈血々糖値及びその差に及ぼす Adrenaline の影響 (第1回注射後6時間)

実験番号	体重 (g)	血 糖 値 (mg/dℓ)		
		大腿動脈(a)	大腿静脈(b)	a - b
344	180	202	190	
345	170	209	199	
346	190	231	216	
347	210	231	220	
348	200	216	209	
349	180	177	173	
350	180	205	192	
351	190	208	200	
352	180	175	164	
353	170	207	195	
平均値		206	196	10

14. Lente Insulin の致死量

a) 実験方法

生理的食塩水を用い0.25ml中に夫々0.8, 0.9, 1.0, 1.1及び1.2単位の Lente insulin が含まれる様に調

製した。6時間以上絶食させたネズミの側腹部に体重100gにつき前記各単位の Insulin を皮下注射により投与して、24時間後にその生死を観察した。以上の条件で1群3匹のネズミを用い1匹以上の生存を認めた Insulin の最大使用量を投与した。

a) 実験結果

表34に示した如く1.1単位以上は全部死亡した。

表35に示した如く1.0単位投与では10匹中3匹の死亡を見た。

表34 Lente insulin の致死量

実験番号	体重 (g)	投与量 (u./100g B. W.)	生	死
			○	×
443	180		○	
444	170	0.8	○	
445	170		○	
446	170		○	
447	180	0.9	○	
448	180		×	
449	170		×	
450	170	1.0	○	
451	180		○	
452	190		×	
453	210	1.1	×	
454	210		×	
455	160		×	
456	190	1.2	×	
457	150		×	

表35 Lente insulin の致死量 (1.0u./100g B. W.)

実験番号	体重 (g)	生	死
		○	×
458	170	○	
459	180	×	
460	200	○	
461	180	○	
462	170	○	
463	180	×	
464	170	×	
465	150	○	
466	170	○	
467	160	○	

15. Adrenaline を投与したネズミに 対する Lente Insulin の致死量

a) 実験方法

生理的食塩水を用い0.25ml中に夫々0.8, 0.9, 1.0, 1.1及び1.2単位の Lente insulin が含まれる様に調製した。又生理的食塩水を用い、0.01% Adrenaline

溶液を調製した。6時間以上絶食させたネズミの側腹部に体重100gにつき0.05mgの Adrenaline を皮下注射により投与した。1時間後にネズミの側腹部に体重100gにつき夫々0.8, 0.9, 1.0, 1.1及び1.2単位の Insulin を皮下注射により投与した。最初の注射より3時間後に同量の Adrenaline を再び投与して2時間後に生死を観察した。以上の条件で1群3匹のネズミを用い1匹以上の生存を認めた Insulin の最大使用量を投与した。

b) 実験結果

表36に示した如く1.1単位以上は全部死亡した。

表37に示した如く1.0単位投与では10匹中6匹の死亡を見た。

表36 Adrenaline を投与したネズミに 対する Lente insulin の致死量

実験番号	体重 (g)	投与量 (u./100g B. W.)	生	死
			○	×
488	175			○
489	170	0.8		○
490	170			○
491	180			○
492	165	0.9		×
493	160			○
494	150			○
495	160	1.0		×
496	160			×
497	170			×
498	170	1.1		×
499	180			×
500	160			×
501	175	1.2		×
502	180			×

表37 Adrenaline を投与したネズミに 対する Lente insulin の致死量 (1.0u./100g B. W.)

実験番号	体重 (g)	生	死
		○	×
503	160		×
504	160		○
505	150		×
506	190		×
507	170		×
508	170		○
509	160		○
510	200		×
511	160		○
512	200		×

結 論

1) 肝, 筋, 脳 Glycogen を分離して酸水解を行い水解曲線を作つて水解係数を求めたが, 3 者の間に大きな差異は認められなかつた。

2) Insulin 投与により著明な低血糖と, 脳 Glycogen 量の減少が見られ, 血糖回復と共に脳 Glycogen 量の回復が見られた。

3) 脾全摘出, Adrenaline, Cortex hormone 及び Pyruvic acid の投与により高血糖と脳 Glycogen 量の増加が見られ, 脳 Glycogen 量の最高上昇時点は血糖値の最高上昇時点より数時間の遅延が認められた。

4) ネズミに甲状腺 Hormone (Thyradin) を与えて脳組織の酸素消費を促進せしめる時には, これと平行して脳 Glycogen 量は著しく減少するのが認められた。又反対に抗甲状腺剤 (Methiocil) 及び睡眠剤を投与して脳組織酸素消費を抑制する時には, これに伴い脳 Glycogen 量は著明に増加してくるのが認められた。

5) Insulin 投与による低血糖時に頸動脈血々糖値と頸静脈血々糖値との差は軽度に減少し, この時脳 Glycogen 量の減少が認められた。これに反して大腿動脈血々糖値と大腿静脈血々糖値との差は著明に減少していることが認められた。

6) Adrenaline 投与による高血糖時に頸動脈血々糖値と頸静脈血々糖値との差は著明に増大し, この時脳 Glycogen 量の増加が認められた。一方大腿動脈血々糖値と大腿静脈血々糖値との差の増加は殆んど認められなかつた。

7) 予め Adrenaline を投与して高血糖を来たした後でも, 本実験の条件と例数では Insulin に対する致死量に変化は見られなかつた。

以上の事実から脳組織に含まれる Glycogen はその含有量は僅少であるが, 血糖の消長に敏感に反応して増減を示し, かつ脳組織の活動度によつて著しい影響を受ける等常に脳の代謝の様相に応じて消失或は合成貯蔵され, 脳の作用維持に重要な機能をはたしているものと考えられる。

稿を終るに臨み, 本研究を信州大学医学部生化学教室に於いて行こなうことに種々の御配慮を賜つた戸塚忠政教授, 並びに本研究に対して直接の御指導と御校閲を賜つた藤村紫郎教授に衷心より謝意を表します。また種々の御援助をいただいた生化学教室の諸先生方に深く感謝致します。

なお本論文の一部は第38回日本生化学会総会に於いて発表した。

文 献

- ①Holmes, E. G. & Holmes, E.: *Biochem. J.*, **20**: 1196, 1925 ②Kerr, S. E. & Ghantus, M.: *J. Biol. Chem.*, **143**: 227, 1942 ③中 脩三: 福岡医誌, **22**: 1509, 1929 ④Himwich, H. E.: *Brain Metabolism and Cerebral Disorders*, p47. 1951, The Williams & Wilkins Co., Baltimore ⑤Hagedorn, H. C. & Jensen, B. N.: *Biochem. Z.*, **135**: 46, 1923 ⑥Kerr, S. E.: *J. Biol. Chem.*, **116**: 1, 1936 ⑦Kerr, S. E.: *J. Biol. Chem.*, **123**: 443, 1938 ⑧Meyer, K. H.: *Advan. Enzymol.*, **3**: 109, 1943 ⑨江上不二夫・他: 多糖類化学, p174, 1955, 共立出版株式会社 ⑩Mc Dowell, M.: *Proc. Exptl. Med.*, **25**: 85, 1927 ⑪Sevag, M.: *Biochem. Z.*, **273**: 419, 1934 ⑫Somogyi, M.: *Biochem. Z.*, **104**: 245, 1934 ⑬Lieb, H. & Schöniger, W.: *Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch- Chemischen Analyse*, 10 Auflage, III / I, p242, 1955, Springer-Verlag, Berlin ⑭飯塚直彦・橋本徳次郎・藤田一雄: 日本内分泌学会雑誌, **27**: 1, 1951 ⑮吉岡一: 脾除後糖尿病, 内分泌のつどい, 第6集, p26, 1952, 協同医書出版社 ⑯Kerr, S. E. & Ghantus, M.: *J. Biol. Chem.*, **116**: 9, 1936 ⑰Kerr, S. E., Hampel, C. W. & Ghantus, M.: *J. Biol. Chem.*, **119**: 405, 1937 ⑱斎藤達雄・他: 現代内科学大系, 代謝異常 II, p 60, 1962, 中山書店 ⑲Himwich, H. E. & Fazekas, J. F.: *Endocrinology*, **21**: 800, 1937 ⑳Gibbs, E. L., Lennox, W. G., Nima, L. E. & Gibbs, F. F.: *J. Biol. Chem.*, **144**: 255, 1942