電気衝撃後に於ける脳糖原及び各種酵素の 組織化学的研究.

I. 電気衝撃の脳糖原に及ぼす急性効果.

Histochemical Studies on Brain Glycogen and Certain Enzymes of Guinea-Pigs and Their Changes after Electric Shock.

I. Acute Effects of Single or Multiple Electric Shock on Brain Glycogen.

久保善平 Zenpei KUBO.

[昭和31年8月29日原稿受付.]

実験的電気衝撃に依る脳の変化を解明する為に病理組織学的に、或は生化学的に多数の実験が行われているが、組織化学的研究は少ない。哺乳類の脳糖原の組織化学的検出が清水と熊本(1952a)により主体固定を行った脳に於て四醋酸鉛-Schiff法によって比較的容易に行い得る様になり、次で正常哺乳動物の脳糖原の分布に就いての詳細な研究(清水と熊本1952b)がなされ、更に清水及び共同研究者により種々な実験条件下に於ける脳糖原の変化に就いての報告がなされている。即ち insulin hypoglycemia に於ける脳糖原の変化(清水と井上1952), histamine shock に於ける脳糖原の変化、飢餓に於ける脳糖原の変化(熊本1953)及び alloxan 糖尿時の脳糖原の変化に就いての組織化学的研究(清水等1954)が発表されている。今回私は之等の研究に続いて電気衝撃による脳糖原の変化を種々の面より組織化学的に検索し、脳機能と脳糖原の消長との関係を推察せんと試みて本実験を企てたものである。本実験に於ては単一衝撃並びに連続衝撃を加えてその直後の変化を見たものであるが、今後更に衝撃の慢性効果及び遠隔効果に就いての研究を併せ行う予定である。

I. 材料と方法.

動物は成熟雄海豚を用い、1群(4匹)は無処置にて対照群となし、1群(13匹)は単一衝撃直後に、他の1群(2匹)は連続10回衝撃直後に、各々胸腔を開き、上行大動脈より Orth 氏液約 40 cc 灌流後、脳を摘出、Rossman 氏液固定24時間、脱水、パラフィン包埋後 10 μ の切片となし、四醋酸鉛-Schiff 法(清水と熊本1952a)に依り染色した(表1)。

刺戟方法.

直径約 0.5 cm の真鍮円板或は金属製クリップを生理的食塩水にて濡して刺戟導子となし、動物の外耳孔の後方約 1 cm の部分に密着させて通電した。電源としては普通の電燈線を用いた。即ち 120 V, 60 cycle の交流を用い、之を変圧器にて 20 V に調整し、その回路内に電流計を連結して平均 16 mA の価を得た。通電時間は 5 秒間とした。

痙攣経過.

通電すると直ちに緊強性痙攣に陥り、25秒間継続した後に間代性痙攣に入り、約15秒間持続後嗜眠に陥る。その間反射全く缺除し、約3分後に覚醒した。

II. 処 見.

A. 対 照 例.

正常海猿に於ける脳糖原の分布状態は大体諸先輩の報告せるものと同様である（清水と熊本 1952 b. 清水と半田 1953）。即ち新生皮質に於ては表在層の neuropil 中に中等度の糖原顆粒が存在し、特に軟膜の直下及び血管周囲の灰白質中に多く証明される（図 1）。外顆粒層より内錐体細胞層迄に於ては neuropil 及び神経細胞中に糖原の存在乏しく、多形細胞層の neuropil 中には少量の糖原顆粒が認められる。古皮質に於ては一般に新生皮質よりも糖原は多く認められ、特に lobus piriformis の neuropil 中に多量に認められる。海馬足に於ては第 1 層及び第 2 層の neuropil 中に少量の糖原が認められるも、神経細胞には之を認め得ない。齒状回に於ける所見も大体海馬足のそれと一致する。

大脳核に於ては一般に糖原は顕著に認められ、尾状核、扁桃核の neuropil 中に小顆粒として認められる。然しレンズ核には認め難い。

間脳に於ては視床上部及び視床に中等度の糖原顆粒が認められ、特に視床下部は他に比して顕著であり、殊に第 3 脳室周壁の灰白質及び上衣細胞層に著明である。

中脳以下に於ては終脳及び間脳に比して糖原の存在は限局性であり且増量を示す。即ち中脳水道周囲の中心灰白層、黒質及び赤核の neuropil に相当多量の糖原が存在し、赤核の大型細胞中にも少量の糖原が存在する（図 4）。中脳に存する脳神経核の中では動眼神経起始核に於てはその neuropil 中及び神経細胞内の Nissl 小体に一致して存在し、三叉神経中脳核では神経細胞内に強く陽性を示す。

橋及び延髄に於てはその neuropil のみならず神経細胞中にも糖原の存

在が認められる.

一般に脳内に於ける糖原の分布は終脳及び間脳の如き脳の吻側部に於てはその neuropil に存在し, 中脳以下橋, 延髄の如く尾側に於ては neuropil のみでなく神経細胞中にも存在が認められる様な傾向にある. 又延髄網様体の neuropil 中の多極神経細胞の細胞体及び軸索突起の周囲に接して多量の糖原が存在する (図 7).

なお第 4 脳室底に於ては area postrema に多量の糖原の存在が認められる.

小脳に於ては各部共に糖原は少なく, 灰白質層に少量の沈着を見るも, Purkinje 細胞には認められない.

B. 実 験 例.

a) 単一衝撃直後の変化 (表 1)

本実験群 13 例に就いては上記の方法で単一衝撃直後に開胸し, Orth 氏液にて生体固定をなしたものであるが, 之等のものの脳糖原の処見は一般的に見て終脳, 即ち脳の吻側端に於ては減少し, 脳幹, 即ち尾側に於ては増加の傾向にある. 之等を更に詳細に述べると, 新生皮質に於ては軟膜の

表 1.

	例数	新生皮質 表 在 層	古 皮 質 海 馬 回	視 床	中脳黒質	脳 幹 網 様 体	オリブ 核
単一衝撃 直 後	13	- 2	0	0	+ 2	+ 1	+ 2
5 回連続 衝撃直後	2	+ 1	0	0	+ 1	0	+ 1
10 回連続 衝撃直後	2	- 3	- 2	- 1	- 2	- 2	0~-2

備考: 0 変化なし, +1 軽度の, +2 中等度の, +3 強度の増加,
-1 軽度の, -2 中等度の, -3 強度の減少.

直下及び血管周囲には正常にては選択的に然も相等多量の糖原が存在し, 又表在層の neuropil にも中等度の糖原顆粒を見る. 之等の糖原顆粒は衝撃直後に於ては著明に減少及び顆粒の微細化乃至は消失を認め得る (図 2). 第 3 層から第 4 層にかけては変化なきか或は少しの増加を認めるが著明ではない. 顆粒細胞には著変がないが, 錐体細胞には Schiff-positive の物質が発現する. 之の陽性物質は唾液消化, エーテル-クロロホルム抽出を行っても消失しない. 之の事は之の陽性物質が糖原乃至は脂質でない

事を示すもので、その本態は不明であるが、glycoprotein の一種と考えられる。古皮質に於ては新生皮質とは反対に一般的に稍々増加の傾向を示す。即ち lobus piriformis の neuropil に稍増加し、その錐体細胞内にも Schiff-positive の物質が発現する。之の Schiff-positive の物質は先の新生皮質に発現せる Schiff-Positive の錐体細胞と同性質のものと推察される。

間脳、即ち視床上部、視床及び視床下部に於ては著しい変化は認めず、唯視床の正中核の神経細胞中に稍軽度の増加を認める。前述の如く中脳以下橋及び延髄に於ては終脳の部分と異り一般的に強く増加の傾向を示す。即ち中脳ではその中心灰白層の neuropil に一般的に増加し黒質及び赤核にも著明に増加する。特に黒質の neuropil 中には著しく増加し、大きな顆粒として認められ(図5)、又赤核の大型神経細胞内及び細胞体周囲に著明に増加する。脳神経核、即ち動眼神経起始核及び滑車神経核には著変なく、唯その neuropil に稍々増加する。橋はあまり著変は認め得ない。延髄に於ける変化の最も著しいものは網様体に見られるもので、その neuropil に増加し、その中の大型の多極細胞の特に細胞体周辺の neuropil に増加する(図8)。顔面、迷走及び舌下の各神経核には著変なく、梯形体及びその核にも著しい変化は見られない。然し下オリーブ核の neuropil に著しく増加する。

小脳に於ける変化は僅少であるが、唯その皮質の灰白質層に稍増加を見る。又 Purkinje 細胞の中に Schiff-positive の物質の発現を見る。

b) 5回連続衝撃直後の変化(表1)。

5回連続衝撃直後の脳糖原の変化は単一衝撃直後の変化と相違し、新生皮質の特に表在層の糖原は変化なきか或は逆に多少の増加を示す。之の事実の現われる理由は単一衝撃直後並びに後の10回連続衝撃直後に殆んど消失している事から理解に苦しむ事である。

その他の部分の処見は大体単一衝撃直後のものと同様であるが、その増加の程度は軽度である。即ち間脳には著しい変化なく、中脳に於ては赤核、黒質の neuropil に軽度の増加を認め(図6)、又下オリーブ核及び梯形体の neuropil 及びその核に稍々増加する。小脳は変化は少ない。

c) 10回連続衝撃直後の変化(表1)。

10回連続衝撃直後の変化は新生皮質に於ては単一衝撃直後の変化を更に強化せるものゝ様であり、又前2者と異なり脳の尾側部に於ても減少している事である。即ち新生皮質の表在層の糖原は殆んど消失し、その他の層の糖原も減少する(図3)。間脳、即ち視床上部、視床及び視床下部に稍減少し中脳の黒質、赤核にも減少を見る。

以上単一、連続 5 回及び連続10回衝撃直後の脳糖原の変化を要約すれば、単一衝撃直後に於ては脳の吻側に於て減少し尾側に於ては増加する。更に 5 回連続衝撃直後はその処見は一度正常像に近く帰り、更に再び10回連続衝撃直後は全般に互り強く減少乃至は消失を来たす。

なお肝糖原の消長は各例とも殆んど消失しているか或は減少している。

III. 考 察.

電氣衝撃が脳に与える影響に就いては種々な方面から研究せられている。病理組織学的には軟膜、四丘体及び視床下部に小血出が見られ、之等の出血は小毛細血管の破綻によるものと云われ、又軟膜の結合織の増加及び脳、脊髓の星状細胞の増加を見るも、脳内部の構造には変化は見られないという (Bernard と Hughs 1942, Heilbrunn と Weil 1942). 然し一方では同様病理組織学的研究であるにも係らず Robert 等 (1950) の猿に就いて行った電氣刺激実験では前者の云う如き変化は見られなかったと云う。

以上の如き単に病理組織学的検査法のみでは脳機能の変化の明確な解明は困難な様に思われる。然し電氣衝撃によって脳の物質代謝に何等かの変動が惹起される事は想像に難くないので、先ずその解決の 1 つとして脳糖原の変化を組織化学的に追求して脳機能の変動を推察せんとするのが本実験の目的であった。

脳糖原の組織化学的検出が四醋酸鉛-Schiff 法 (清水と熊本 1952) に依って鋭敏に且比較的容易に行い得る様になり、次で insulin hypoglycemia に於ける脳糖原の減少 (清水と井上 1952), histamine shock 時の脳糖原の消失 (清水と半田 1953) 等の各種実験条件下に於ける脳糖原の変化に就いて報告がなされている。本実験に於ては新生皮質の表在層に糖原の減少乃至は消失を見、脳幹部に於ては中等度の増加を示している。先に清水と井上 (1952) により insulin hypoglycemia に依る coma 時に脳糖原の減少が認められたが、同様に Kerr と Ghantus (1936), Chesler と Himwich (1943) に依り insulin hypoglycemia の脳糖原の減少が報告され、後者はその変化は吻側より尾側に向って進行すると云っている。

一方電氣衝撃に依って起る脳の物質代謝の変動に関する化学的観察も種々報告され、その中或物は本実験と同様な結果に達している。即ち Olsen と Klein (1947), Dawson と Richter (1950), Richter (1952) は電氣衝撃により糖原の著明な減少と同時に phosphocreatin, adenosine triphosphate 及び葡萄糖の減少を認めている。又一部大脳皮質に就いて之の組織呼吸及び glycolysis より脳機能を推察せんとする実験が Mel Lwain (1951) によ

って行われているが、電気衝撃によってその組織呼吸、乳酸産生の増加 (McIlwain 1951)、葡萄糖の利用増加 (McIlwain, Anguiano, Cheshire 1951) 及び phosphocreatin の減少を認めている (McIlwain と Morion, 1951). 然し一方 Chance と Yaxley (1950) 及び Chance (1951) は電気衝撃及び諸種の痙攣剤を用いてその緊張性痙攣時に於ては脳糖原の著明な増加を称えている. 之の成績は吾々の今回の実験と異なるものであるが、大脳皮質は正常時に於てもその脳糖原は僅少であり、その変動は衝撃の強度、部位、瀬度及び材料採取迄の時間によって大いに異なるものであり、之等の問題については更に実験を試みる予定である.

以上より電気衝撃に依り大脳皮質の glycolysis が一時的に増大し、糖原の減少乃至は消失を招来しその本来の機能を發揮し得なくなり、一方各種神経作用の調整に重大なる役割を有すると考えられている脳幹部網様体部はその回復の早いために反対に糖原は増加し、その機能は増大しているものと考えられる.

IV. 結 語.

成熟雄海獣に電気衝撃（単一、5回連続及び10回連続）を加え、その直後の脳糖原を組織化学的に検索し、同時に正常海獣のそれと比較して次の結果を得た.

1. 新生皮質. 正常時に於ては中等量の糖原が表在層にあり、深層には少ないが、電気衝撃により特に表在層に於て糖原の減少を来たす. その変化は neuropil に著しく、神経細胞に於てはあまり著明ではない. 本変化は単一衝撃及び10回連続衝撃直後に著明であり、5回連続衝撃直後には著明ではない.
2. 古皮質. 古皮質に於ては変化少なく新生皮質とは反対にその糖原は軽度の増加を示すが著明ではない.
3. 脳幹. 脳幹部に於ては糖原は著明に増加している. 即ち各例共に黒質、赤核、延髄網様体及びオリブ核の neuropil に著明に増加を来たす.
4. 小脳. 小脳に於ける変化は一般に著明ではない.

擧筆するに臨み、終始御懇切なる御指導御校閲を賜った恩師清水信夫教授に厚く感謝の意を捧げます.

Author's Abstracts.

The guinea-pigs given single or multiple electroshock convulsions and control animals were subjected to the rapid intravascular perfusion with

ORTH's fluid. The electric current (20 V, 16 mA, 60 cycle) was applied to the retroauricular region of the head for 5 seconds. The excised brains were fixed in ROSSMAN's fluid, and the sections were stained with the lead-tetra-acetate-SCHIFF method.

Immediately after a single shock the neocortex generally reveals a moderate decrease in glycogen content in the molecular layer, while the substantia nigra, formatio reticularis of the bulb, and inferior olivary nucleus show a moderate to slight increase.

引用文献.

- Bernard, J. A.** and **J. Hughes**: Changes in the brain after electrically induced convulsions in cats., *Arch. Neur. (Am.)* 47 (1942). P. 385—393. — **Chance, M. R. A.** a. **D. C. Yaxley**: Central nervous function and changes in brain metabolite concentration I. Glycogen and lactate in convulsing mice. *J. exp. Biol.* 27 (1950). P. 331—323. — **Chanee, M. R. A.**: Central nervous function and changes in brain metabolite concentration: Characteristic glycogen increment patterns produced by convulsant drugs. *Brit. J. Pharm. a. Chemother.* 6 (1951). P. 1—7. — **Chesler, A.** a. **H. E. Himwich**: The glycogen content of various parts of the central nervous system of dog and cat at different age. *Arch. Biochem.* 2 (1943). P. 171—181. — **Dawson, R. M. C.** a. **D. Richter**: Effect of stimulation on the phosphate esters of the brain. *Amer. J. Physiol.* 106 (1950). P. 203—211. — **Heilbrunn, G.** a. **Weil**: Pathologic changes in the central nervous system in experimental electric shock., *Arch. Neur. (Am.)* 47 (1942). P. 918—930. — **Kerr, S. E.** a. **M. Ghantus**: The carbohydrate metabolism of brain II. The effect of varying the carbohydrate and insulin supply on the glycogen, free sugar and lactic acid in mammalian brain. *J. biol. Chem.*, 116 (1939). P. 9—20. — **熊本哲三**: 飢餓に於ける脳グリコーゲンの組織化学的研究. 大阪大学医誌, 5 (1953). 頁 553—562. — **McIlwain, H.**: A means of metabolic investigation of small portions of the central nervous system in active state. *Biochem. J.* 50 (1951a). P. 132—140. — Metabolic response in vitro to electrical stimulation of section of mammalian brain. *Biochem. J.* 49 (1951b). P. 382—393. — **McIlwain, H.** a. **B. R. G. Marion**: Action of electrical stimulation and of 2:4-dinitrophenol on the phosphate in section of mammalian brain in vitro. *Biochem. J.* 50 (1951). P. 24—28. — **McIlwain, H., C. Anguiano** a. **J. D. Cheshire**: Electrical stimulation in vitro of the metabolism of glucose by mammalian cerebral cortex. *Biochem. J.* 50 (1951). P. 12—18. — **Olsen, N. S.** a. **J. R. Klein**: Effect of convulsive activity of brain upon its carbohydrate metabolism. *Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.* 26 (1947). P. 118—130. — **Richter, D.**: Brain metabolism and cerebral function. *Biochem. Soc. symposia.* No. 8 (Metabolism and function in nervous tissue) (1952). P. 62—76. — **Robert, G. S., F. W. Williams** a. **S. C. Williams**: Histologic study of the brain of monkeys after experimental electric shock. *Arch. Neur. (Am.)* 63 (1950). P. 79—86. — **Shimizu, N.** a. **T. Kumamoto**: A lead-tetra-acetate-Schiff method for polysaccharides in tissue section. *Stain Techn.* 27 (1952). P. 97—106. — Histochemical studies on the glycogen of

- the mammalian brain. *Anat. Rec.* 114 (1952). P. 479—497. — **Shimizu, N. a.**
G. Inoue: Histochemical studies on the brain glycogen of rabbits and its changes during insulin hypoglycemia. *Med. J. Osaka Univ.* 3 (1952). P. 337—345. — 清水信夫, 半田順俊, 熊本哲三, 久保善平: アロキサン糖尿病家兎の脳に於けるグリコーゲンの組織化学的研究. *和歌山医学*, 5 (1954). 頁. 9—17. — **Shimizu, N. a.**
J. Handa: Histochemical studies on the brain glycogen of the guinea pig affected by histamine shock. *Med. J. Osaka Univ.* 3 (1953). P. 579—589.
-

Plate-Figures

附 図 1.

全例共に四醋酸鉛-Schiff 法にて染色せるもので、糖原は微細顆粒状に現れる。

図 1. 正常海猿脳新生皮質. $\times 500$.

表在層の neuropil 中に中等度の糖原顆粒を認め、又軟膜直下及び血管周囲の灰白質に多い。

図 2. 海猿脳新生皮質、単一衝撃直後. $\times 500$.

糖原顆粒は明らかに減少し、又微細化する。

図 3. 海猿脳新生皮質、10回連続衝撃直後. $\times 500$.

糖原顆粒は殆んど消失する。

図 4. 正常海猿黒質. $\times 500$.

Plate 1.

All the sections were stained with lead-tetra-acetate-SCHIFF method, and glycogen granules were shown as dark purple granules.

Fig. 1. Neocortex of a normal guinea-pig. $\times 500$. Glycogen granules not only accumulate around the blood vessels and directly beneath the pia, but also are irregularly disseminated in the neuropil.

Fig. 2. Neocortex of a guinea-pig given single electroshock. $\times 500$. Glycogen granules are essentially decreased or absent.

Fig. 3. Neocortex of a guinea-pig given 10 electroshocks. $\times 500$. Glycogen granules are essentially absent.

Fig. 4. Substantia nigra of a normal guinea-pig. $\times 500$. Abundant minute particles of glycogen are disseminated in the neuropil.

久保善平(1)

附 図 2.

Neuropil に相当量の糖原顆粒が存在する.

図 5. 海 眞 黒 質, 単一衝 撃 直 後. $\times 500$.

Neuropil の糖原顆粒は著しく増加する.

図 6. 海 眞 黒 質, 5 回連続衝 撃 直 後.

その neuropil に中等度増加する.

図 7. 正常海 眞 延 髓 網 様 体. $\times 500$.

図 8. 海 眞 延 髓 網 様 体, 単一衝 撃 直 後. $\times 500$.

正常に比して糖原顆粒が neuropil に明らかに増加し, 特に大型多極神経細胞体に接して著明に増加.

Plate 2.

Fig. 5. Substantia nigra of a guinea-pig given single electric shock. $\times 500$. Extreme increase of glycogen granules is shown in the neuropil.

Fig. 6. Substantia nigra of a guinea-pig given 5 electroshocks. $\times 500$. The increase of glycogen granules in the neuropil is moderate.

Fig. 7. Formatio reticularis of the bulb of a normal guinea-pig. $\times 500$.

Fig. 8. Formatio reticularis of a guinea-pig given single electroshock. $\times 500$. Glycogen granules are increased in the neuropil especially at the surface of large multipolar nerve cells.

久保善平(2)