STUDIES ON THE PHOSPHORUS METABOLISM IN THE CENTRAL PATHWAY OF THE COCHLEAR NERVE.

By
T. TOJO

From the Department of Otorhinolaryngology, Kyoto Prefectural Medical School

P^{32} metabolism in the central pathway of the cochlear nerve of the rat was examined to study one aspect of dynamic biochemistry of nerve tissue, and also biochemical mechanism in the physiology of audition.

Normally, the quantity of P^{32} which was transferred into the tissue of the central nervous system was quite small. P^{32} was transferred first to the acid soluble phosphorus fraction and then to nucleic acid protein fraction. The transfer to the lipid fraction was, though it took place last, greatest in quantity.

An experiment with 5,000 cps pure tone of 110 phon revealed that the transfer of P^{32} to the nucleic acid protein of the central pathway of the cochlear nerve was enhanced by a brief stimulation and suppressed by a long lasting stimulation. This phenomenon was especially remarkable in the lower terminal nucleus.

By the administration of Dihydrostreptomycin the transfer of P^{32} to nucleic acid protein was inhibited.

To reproduce these in vivo findings appropriately in vitro, the experiment of P^{32} transfer was made, by measuring oxygen consumption with the Warburg apparatus. The P^{32} metabolism showed the same tendency both in vivo and in vitro. In this in vitro experiment, by addition of vitamin A or ATP preparation, the transfer of P^{32} to the nucleic acid of the central pathway of the cochlear nerve was enhanced.

In the nervous tissue in which carbohydrate metabolism plays a most important role, the metabolism of phosphorus seems to be essential to maintain its function.

蝸牛神経中枢路の燐代謝に関する研究

京都府立医科大学耳鼻咽喉科教室 (主任: 中村文雄教授)

医学士 東 条 忠 弘
トウ ジョウ タダ ヒロ

目	次
第1章 緒 言	第2項 音響負荷動物蝸牛神経中枢への P^{32} の移行
第2章 文献的考察	第3項 DHSM 中毒動物蝸牛神経中枢路へ P^{32} の移行
第3章 実験方法	第2節 in vitro における実験成績
第1節 in vivo における研究	第1項 正常組織への P^{32} の移行
第2節 in vitro における研究	第2項 DHSM による P^{32} 移行の変化
第4章 実験成績	第3項 ビタミン A 及び ATP による影響
第1節 in vivo における実験成績	第5章 考 按
第1項 正常動物 蝸牛神経 中枢路への P^{32} の移行	第6章 結 語

第1章 緒 言

人類が社会生活を営む上に、聴覚の占める位置は大きい。難聴に対する適確な治療法の出現は、すべての臨床耳鼻科医が社会の要求に応じて常に念願する所である。最近医学の進歩、特にその手術手技の向上と共にこれ等聴力改善に対する手術的療法が数年来注目され、あらゆる方面からの検討が加えられた。その結果内耳開窓術、Stapes mobilisation, Myringoplastik, Tympanoplastik 等伝音系に対する聴力改善手術は長足の進歩を遂げ、所謂伝音系難聴の治療効果に対しては明るい希望がもてる時代になった。医学の進歩の及ぶ能力は遺憾なく中耳及び一部内耳の伝音機構迄に止つている。内耳性難聴、神経性難聴に対しては、今なお根本的、且理論的な治療法が見出されず、数多い重症患者が無為無策のまま放置された状態に置かれている。例えば結核治療剤として Streptomycin が発見され、その卓越的な効果を認められながらもそれに伴う副作用即ち Streptomycin 並びに Dihydrostreptomycin (以下 DHSM と略) による聴覚障害は今日なおその原因をつきとめる事ができず、一旦発現すれば予後不良なる事より、結核治療にある程度の制限が加えられている事は否定できない。又騒音性難聴若くは職業性難聴は近代社会産業の進展と共にその数を増している。しかしこれに対する対策も聴覚伝導に関する神経の代謝機構の本態が今なお不明なるが故に消極的な予防法が構じられているにすぎない。

一般に神経性難聴と考えられるものには、持続的音響刺激による神経の疲労に伴う機能的なもの、又は DHSM の如き薬物中毒による神経組織そのものの障害によるものあるいは又老人性変化の如く全身的な機能衰退の結果神経組織が変調するために現われてくるもの等が考えられる。これらの難聴は当然よつてくるべき機構が異なるべきであろうと推定される。しかし現況では難聴の原因が内耳にあるか、より中枢の神経路にあるか、との診断が辛うじて下し得るに過ぎず、より以上の事は暗中模索の域を出ない。今日迄のこの方面の研究を見るに Audiology の立場からする難聴の度の進行過程、その障害部位の決定、又は組織形態学的な研究によつて占められ、その成立機構に関しては、殆んどが未解決と言つて間違はない。組織形態学的に細胞の変性が把握され、臨床的に聴力検査により聴力損失が証明されると言う事は細胞内物質代謝に異常をきたし、その結果現われる終着点の現象を見ているに過ぎない。重要なのはその過程の現象であり、これは当然神経の物質代謝の面より

の検討が必要である。即ち神経の物質代謝の面より神経性難聴の本態を追求し得られた正確な生理病理現象を基礎として、この治療方法を体系づけるのが私の研究の究極の目標である。不幸にして医学の現況は聴覚生理そのものが生化学的現象より殆んど解決されていない。未だ胎生期を出ない聴覚領域神経化学において、この目的のためにいかなる手段を選ぶべきかは私の先ず脳んだ大きな問題であつたが、神経組織の機能に重要な関係にある燐代謝を追究することを企図し、聴神経中枢終止核及び大脳皮質聴覚領域における正常状態並びに音響刺激及び薬剤中毒などによる変動を検索して、一定の成績を得たので報告する。

第2章 文献的考察

生命を支配する中心的な神経組織の代謝は、他の器官と異り非常に複雑特異的な性格を有している。この複雑な脳代謝、蝸牛神経中枢の代謝の生理並びに病理機構を見る一つの指標として私は燐代謝に注目した。それは含水炭素代謝が神経化学領域に占める重要さ、含水炭素代謝に関する燐の意義が最近の東西の文献において余りにも鮮明に私の脳髓にひらめきを与えたからである。

脳髓は他の器官例えば腎や肝と異り、脂肪酸をエネルギー源として使用せず専ら炭水化物に依存していると言われている。グリコーゲン並びにグルコースは嫌氣的な解糖系と好氣的な呼吸系によつて完全に利用、消費されているが、これには平行して燐の代謝系が必須の機構として仕組まれている。この系列の知識は近代生化学の進歩の主流として近年特にその隆盛を見るに到つている。即ち Cori 一派¹⁾は脳髓の浸出液にブドウ糖-1-燐酸とブドウ糖-6-燐酸の移行の可能な事を証明し、ヘキソキナーゼ、フォスフォグルコムターゼ活性が脳髓にもある事を認めた。又25年前 Warburg 一派²⁾は初めて脳髓の解糖作用を発見し、その後 Ochoa³⁾, Utter⁴⁾により全経過が再検討された結果脳の解糖作用は Embden⁵⁾ 及び Meyerhof⁶⁾ の様式に従う事が明かとなつた。又最近 Coxon⁷⁾, Weilmalherbe⁸⁾ Abood⁹⁾, Mc. Ilwain¹⁰⁾, Krebs¹¹⁾ 等はいずれも Embden-Meyerhof 系に必要な酵素系がすべて脳において証明されている事、及び in Vitro においてブドウ糖の燐酸化を起し得る事実に基き、この見解をはつきり認めている。この間において附燐現象に止まらず、ATP 等高エネルギー燐結合の関与等燐代謝の意義は極めて大きい。斯様に嫌氣的な解糖系を経て生じた焦性ブドウ酸が水と CO₂ に分解されなければ、乳酸形成という細胞にとつて

は面白からざる現象が起る。このために焦性ブドウ酸は krebs の TCA Cycle によつて完全に水と CO_2 に分解される。この時にエネルギーの発生と言う重要な機構が営まれる事が明らかになつてゐる。この Krebs の TCA cycle が脳髓の神経細胞において、完全に行われている事に関してはなお疑問の余地があるとされているが、中¹²⁾の言う如く、この Cycle が脳において、ブドウ糖の化学変化中に参与していると考ええる事は、差程危険な推論ではないかと考える。Embden-Meyerhof の解糖系、Krebs の TCA Cycle の存在を肯定して実験を進めるのが手段的には最も妥当と考えられる。

脳の唯一の力源である炭水化物の代謝において、先づグリコーゲンから、又はブドウ糖が直接に磷酸化されるのに ATP の存在が必要であり幾多磷酸化中間代謝産物を経て焦性ブドウ酸に到るがこの過程で高エネルギー磷酸結合が一部発生する。TCA Cycle の回転に伴つて主要な ATP 系の合成が起る。ATP は 1941 年 Lipmann¹³⁾ 等の研究により、生体の行う仕事に必要なエネルギーを直接供給する特殊な磷酸化合物である事が判明した。即ち ATP はアデニール酸に更に 2 枚の磷酸が結合した形のものでその結合の部分に高い自由エネルギーを含んでいる。即ちこれは炭水化物の分解によつて生じた自由エネルギーをプールする役割を演じている。こうして脳が合成反応や、色々の仕事をするには、この ATP の分解によつて発生するエネルギーが反応や仕事の原動力として利用されるのである。即ち解糖系の進行は磷代謝の完全であることを必須条件としている。

又一方磷の神経における重要さは解糖呼吸系のみならず、感覚神経の神経細胞においても、他の生体細胞と同様に核蛋白の如き成分殊に RNA がその機能に密接な関係がある事は Hyden¹⁴⁾ 等が組織紫外線吸光度より指摘したところである。即ち Neuron に刺激伝達動作が行われた時、神経線維軸索蛋白構造になん等かの型の変化が現われ、蛋白減少が認められ、これが補給のため、その神経細胞内に蛋白の消費並びに RNA の減少が証明できるところから逆に RNA は蛋白合成に関与すると言う Caspersson¹⁵⁾ 等の説が現在考えられている。核酸は五炭糖と塩基とがグリコシド結合をしたグルコシドの磷酸エステルの重合体であり、磷はこれ等神経組織の機能に必要な核酸の一合成成分であり、神経組織にとつて磷の必須欠くべからざる一つの点がこのにも存在する。

更に神経殊にその髄鞘におけるリポイドの重要性にも

磷は関係している。脳髓の磷の過半数はリポイドの形で存在するとも言われ、Samuels¹⁶⁾ の神経線維の分析では約 70% となつてゐる。この一事を見てもリポイド代謝における磷の重要さが明確に表現されている。

磷代謝を見るためには、磷の検出定量と幾多の手段が考えられるが、聴中枢路の神経細胞の機能を聴覚機能との関連の下に検索するためにはこのような静的な研究方法によつてはならない。このために私は放射性同位元素 P^{32} の使用を試みた。これによつてのみ、その動的な状態を客観的に把握する事が可能であり、細胞の機能、機構を知り得る事ができる。

放射性同位元素が生物学の新陳代謝の研究に利用されたのはかなり古く 1923 年 G. Hevesy¹⁷⁾ によつて Th-B を用いて植物の鉛の吸収及び移動の研究をしたのに端を発している。1934 年 Curie 及び Goliot¹⁸⁾ により人工放射性同位元素が発見され、その翌年には同じく G. Hevesy¹⁹⁾ により P^{32} を用いた動物の磷代謝の研究がなされ、放射性同位元素の生化学方面への利用は急激に展開した。それ以来放射性同位元素により数多くの研究がなされ、生物の新陳代謝の動的な把握、生体内諸物質の分解合成等の諸機構が次第に判明しつつある。一方脳髓においても放射性同位元素はその代謝機構の解明に重要な役割を演じてゐる。殊に磷は前述の如く脳の機能に必須欠くべからざる事、更に放射性磷は Carrier を含まないものが比較的安価に得られる事、半減期が 14.3 日で適当な長さである事、 β 線のエネルギーが大きく、放射能の測定が比較的容易である事等からこの方面の P^{32} を用いた研究は数多く見られる。

神経化学の領域にこの P^{32} を利用した研究も少くない。Bakay, Lindberg²⁰⁾, Sacks, Gulbreth²¹⁾ 等は P^{32} が脳に移行する経路について検討を加え、Artom, Sarzana, Perrier, Santangelo, segré²²⁾ Cohn, Greenberg²³⁾ 等はこれが脳に移行する速度が非常に遅いことを認めた。かくして脳の磷代謝が他の臓器と異つた特異な性格を有している事が明かにされた。この脳への移行を妨げる所謂脳血液関門と言うものも古くは Goldman²⁴⁾, Spatz²⁵⁾ 等の色素による研究が見られるが放射性同位元素の発見以来急激に進歩しそれが何処の部位に存するかに関しては Bakay, Lindberg²⁰⁾, Greenberg, Aird, Campbell, Cohn, Murayama²⁶⁾, Borell, Örstöm²⁷⁾ 等の放射性磷を用いた実験が報告されている。しかしこの特異な選択性を有する脳血液関門を通過して脳内に入つた磷は Dawson²⁸⁾, Lindberg, Ernster²⁹⁾

等の言う如く、速かに Phosphorylation Cycle に入り ATP 及び磷クレアチンの如き不安定磷化合物に結合せられ、そのエネルギー源として重要な役割を果たしている。

一方細胞体において代謝の波にのつた磷化合物により合成された蛋白は神経本来の機能である刺激伝導により常に消費される蛋白を補給せんがために所謂 Axon flow によつて 1 日 3mm の速さで軸索突起に沿ひ下降する事が Samuels, Boyarsky, Gerard, Libet, Brust³⁰⁾ 等により明かにされた。この神経に刺激を与えた場合、その速度が増加する事も判明している。

なお放射性磷の脳への侵入が、種々の因子により左右される事に関しても、以下示す如く数々の業績が見られる。即ち Schachner, Fries, Chaikoff³¹⁾ 等はこの侵入速度は Glucose の代謝に左右されると言い、Kety, Schmidt³²⁾ Brierley³³⁾ は脳の血液循環を刺激する炭酸ガスの吸入が磷の摂取を増加せしめる事実を家兎について観察した。又神経の変性並びに再生に際しても磷の侵入が増加し、殊に核酸及びリポイド分層への P³² の結合が促進される事が Bodian, Dziewaitkowski³⁴⁾, Samuels, Boyarsky, Gerard, Libet³⁰⁾ 等により指摘されている。Dawson, Richter³⁵⁾ の実験によれば、動物を麻酔した時、低血症の時、緊張した時、脳に電気刺激を与えた後等には P³² リポイド分層への移行が妨げられる。Euler, H, Euler U, Hevesy³⁶⁾, Brierley³³⁾ 等は坐骨神経に電気刺激を与え、磷の移行が増加する事を確認した。Grande, Richter³⁷⁾ 等は蛙の坐骨神経について電気刺激を与えると放射性磷の侵入が昂進すると述べているが Mullins³⁸⁾ によれば刺激中はその侵入は完全に停止しているが、刺激中止後直ちにその代償として急速に増加するのであると述べている。

この外種々分層における放射性磷の合成、分解移動等代謝過程に関する研究更には磷以外の放射性物質の利用度放射性同位元素は、あらゆる領域に広く応用せられている。私はかくして今日迄解けなかつた複雑な神経組織の代謝機構の謎が放射性同位元素の出現によつた徐々に解明されつつある事に着目し、蝸牛神経領域の磷代謝機構を P³² を指標として追求し得られた生理現象を基礎として神経性難聴殊に DHSM 難聴の性格を明かにし、系統治療法確立への近道を探索せんと思い、本研究を進めた。

第3章 実験方法

実験動物には 100gr 内外の成熟白鼠を用いた。この実験に使用した P³² は日本同位元素協会より得たイギ

リス Radiochemical Center のものである。

第1節 in vivo における研究

先ず正常白鼠における P³² の脳髄への推移を知るために動物を 8 群に分ち実験を行った。第 1 群は P³² 注射 1 日後に、第 2 群は 2 日後、第 3 群は 3 日後、第 4 群は 5 日後、第 5 群は 7 日後、第 6 群は 10 日後、第 7 群は 13 日後、第 8 群は 15 日後、に夫々断頭脳髄を剔出、更に蝸牛神経中枢路終止核である聴結節、下丘体、大脳皮質聴領域を剔出した。P³² の使用量は実験動物体重 1gr に就き 1 μ c でこれを筋肉内に注射した。

剔出した資料は、秤量後ドライアイスエーテルにて冷却し低温下でリンゲル氏液にてホモジナイズし一定量 2cc にする。

磷分層分割には Schneider³⁹⁾ の方法を用いた。即ち 2cc のホモジネートに 14% 三塩化醋酸 (TCA) 2cc を加え充分混和し、10 分間放置した後遠心沈澱し、上清と沈澱を分離する。更に沈澱に 10% TCA 2cc を加え沈澱を充分浮遊し混和した後、再び遠心沈澱し、前後の上清を合す。この操作を 3 回繰返し合した上清を酸溶磷分割とした。この操作中はドライアイスにて常に冷却操作するよう留意した。次に沈澱にアルコール 5cc を加え、混和 10 分間放置後遠心沈澱し同操作を今一度繰返した。沈澱に今度 1:1 アルコール・エーテル混合液を加え 3 分間湯煎上で加熱後遠心沈澱する。このアルコール及びアルコール・エーテル混液にての抽出液が即ちリポイド磷分層である。残つた沈澱を 5cc の 10% TCA で抽出し更に沈澱に 5% TCA 5cc を加え沸騰せる水溶上で 15 分間加熱冷却した後遠心沈澱した。同操作をもう一度繰返し、この TCA 抽出液を一括して核酸磷分層とした。残つた沈澱は蛋白磷分層として実験に供した。このようにして分離せられた各分層を夫々キエルダールフラスコに取り硫酸及び硝酸を加えて湿式灰化した。放射能測定のための沈澱採取には、菊地、脇坂、明石⁴⁰⁾ 等の方法に従つた。即ち灰化完了後蒸溜水を加えて各々 20cc とし内 5cc にして磷量の測定を行った。残る 15cc に沈澱を得るため Carrier として 0.1 モル第 1 磷酸カリ 0.5cc を加え指示薬としてフェノールフタレイン溶液を各 2 滴宛滴下、マグネシア混液 1cc を加えた後磷酸マグネシウムアンモンの沈澱が完全に析出するのを待つて沈澱を Counting Cup に吸引濾過した。Cup に取つた沈澱を乾燥後、神戸工業製 Geiger-Müller 計数器にて放射能を測定した。

とつた各灰化液 5cc 磷量測定のために、ニトロフェ

ノールを指示薬としてアンモニア中和 (pH7.9) 水を加えて 10cc とし, Fiske & Subbarow の法⁴¹⁾により, モリブデン酸アンモニウム溶液 1cc, アミノナフトールズルフォン酸溶液 0.5cc を加え, よく混和した後 37°C 孵卵器中に 30 分間保ち発色させた後, 東京光電製光電比色計を用い 660m μ の波長の部の透過率を求めた. 又別に隣規準液 (第一化学薬品製) を使用して, 種々の濃度の隣溶液を作製し, 上記同様操作を施した後夫々 660 m μ 波長における透過率を求め標準曲線を作製し, このグラフによつて透過率から隣量を換算するようにした. 斯くして得られた放射能計数値並びに隣量より Specific activity を求める事ができた.

次に聴覚伝導路の機能的变化を見るために白鼠に音響刺激を与え, その時の蝸牛神経中枢終止核への P³² の移行を求めた. 刺激の与え方は第 1 図の如く横河製 Sound level meter にて 110phon に調整した 5000cps の純音を 1 日 6 時間与えた. 刺激の与え方によつて白鼠を A B C の 3 群に分ち, A 群にはこれを 3 日間, B 群には 5 日間, C 群には 10 日間連続投与した. すべての動物に刺激最終日に P³² 体重 1gr 当り 1 μ c を筋肉注射し, 5 日後に断頭前記方法によつて蝸牛神経中枢路終止核への P³² の移行の変化を観察した. この際, 比較的騒音の少い場所で, 同条件にて飼育した無刺激健康成熟ラットを対照群として P³² 1 μ c/体重 gr を与え 5 日後断頭し比較検討した.

第 1 図
音響刺激の與え方
↓: 5000cps 110 phon 6 時間
↓: P³² 1 μ c/体重 gr 筋注
⊕: 断頭

動物	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
A 群	↓		↓	↓	↓	↓	↓	↓	⊕						
B 群	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	⊕				
C 群	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	⊕

DHSM 投与による実験には実験動物体重 1gr に就き 0.2mg の DHSM を 1 日 1 回筋肉内注射し, 35 日間連日投与した動物を用いた. 同じく最終日に P³² 体重 gr 当り 1 μ c を筋肉内注射 5 日後に断頭, 蝸牛神経中枢路終止核の P³² 摂取に対する変動を求めた. この場合にも同条件で飼育した正常成熟白鼠を対照として用いた.

第 2 節 in vitro における研究

実験動物は 100gr 内外の成熟白鼠を用いた. 断頭脳髓剔出後, 蝸牛神経中枢路終止核を剔出ホモジネート及び切片として使用した. 即ちホモジネートの場合組織をリンゲル氏液にて Potter-Elvehjem⁴²⁾ 型の硝子ホモジナイザーを用いてホモジナイズシ全量 1cc にした. 組織の呼吸を維持し且これを確めるために私はワールブルグ検圧装置を使用した. ホモジネート 1cc 又は切片を浮かしたリンゲル氏液 1cc を主室に入れこゝに 2.5 μ c の P³² を含有せる溶液 1cc を加えた. 中央室には放出炭酸ガスを吸収せしめ, 炭酸ガス分圧を 0 にするために 10% 苛性カリ溶液 0.3cc を入れた. 又 SM による影響を観察するために DHSM 濃度が容器内で, 1, 10, 100 r/cc となるように溶液を調整し, この DHSM 溶液 0.5cc, 2.5 μ c の P³² 溶液 0.5cc, ホモジネート又は切片浮遊液 1cc を主室に入れた. 他の薬剤例えば Vitamin A, ATP (タウロ ATP-Na 塩, 今川製薬) 等の効果を見る場合には, これ等溶液 0.5cc 2 μ c の P³² 溶液 0.5 cc 組織浮遊液 1cc の混合液を用た. これら資料を入れた容器を QO₂ 測定の方法に従い, マノメーターに連結の上, 恒温槽内にて作用せしめた. かくして一時間後ホモジネート及び切片を取出し, 直ちに冷却, 切片はホモジナイズシ in vivo の場合と同様操作にて各分層に分割し, 放射能を測定一部にて隣量を測定し Specific activity を求めた.

なお QO₂ を求めるのに組織の乾燥重量を必要とする組織を灰化するために, この組織から直ちに乾燥重量を得る事は不可能である. そこで私は正常成熟白鼠の各部脳髓を用い一方では生重量と乾燥重量を測定し, 隣量から直ちに乾燥重量を換算し得るよう第 2 図の如き基準曲線を作製した. 又 P³² の放射能による神経組織の代謝機構の影響を検するために P³² を有せざる対照を, 更

に各分層間の物質代謝機構以外の物理的作用による移行を検査するためにワールブルグ恒温槽に incubate しない対照を各々作製した。

第4章 実験成績

第1節 in vivo における実験成績

第1項 正常動物蝸牛神経中枢路への P^{32} の移行

白鼠体重 1gr に就き $1\mu\text{C}$ の P^{32} を筋注した後 1, 2, 3, 5, 7, 10, 13, 15 日後に断頭し、脳剔出、秤量、Schneider の方法に従い分離した各分層の各群における組織重量 20mg に対する計数値は第1表の如くである。核酸分層並びに蛋白分層は合して残余分層（核蛋白分層）とした。即ち、総磷の計数値は日と共に徐々に上昇し、7乃至10日目頃最高となる。酸溶分層でその値は2日目で238となり2乃至3日目頃最高となる。その後は急激に減少し5日目以後は0~20と痕跡的な値を示した。リポイド分層への P^{32} の移行は遅く、総磷と大体同様な経過を辿り、13日目に最高値を示す。核蛋白分層においても、矢張り漸時上昇の傾向を示すが、総磷、リポイド分層等と異なるのは注射後7日目頃を頂点としてほぼ対称的な値を示す事である。即ち注射された P^{32} は先ず酸溶分層に侵入し核蛋白分層、リポイド分層殊に後者への移行はかなり遅いと云う結果を示している。

第1表 正常白鼠脳髓への P^{32} の移行 (c.p.m./組織 20mg)

P^{32} 注射後日数		1	2	3	5	7	10	13	15
分	層								
総	磷	182	255	318	401	450	461	452	438
酸	溶	140	238	177	25	8	15	12	9
リ	ポ	67	107	144	203	272	298	314	280
核	蛋白	109	153	197	245	279	221	161	128

第2項 音響負荷動物蝸牛神経中枢路への P^{32} の移行

実験方法の項に記した方法にて音響刺激を与え、 P^{32} を筋注5日後に断頭、剔出した蝸牛神経中枢路終止核についての成績を次に述べる事にする。

この時期における酸溶分層への P^{32} の侵入は僅かなため、これについては触れなかつた。核蛋白分層についての組織 100mg に対する計数値平均（以下いずれも平均値を示す）は第3図の如くで、聴結節、下丘体、大脳皮質聴領域への P^{32} の移行を正常対照群について見ると、その値は聴結節においても最も高く、次に大脳皮質聴領域、下丘体の順序になる。聴結節において

は音響刺激を3日間与えた A 群では対照 224 に比し 654 と甚しい増加を示し、刺激回数の重なるに伴い B 群 261, C 群 139 と減少、C 群においては既に対照群よりも低い値を示している。下丘体においても同様の傾向が見られ対照 201, A 群 288, B 群 245, C 群 161 と一時増加した後、次第に減少する傾向を示しているが、その増減の開きは、聴結節において観察された程著明ではない。大脳皮質聴領域においては、対照群 204, A 群 347, B 群 178, C 群 233 と不安定な値を示し、一定の傾向を把握する事は難かしく、必ずしも減少するものであるとは断言できない。

次にリポイド分層に就いての成績は第4図に示され

第3図

音響刺激による Nucleoprotein- P^{32} の変動

第4図

音響刺激による Phospholipid- P^{32} の変動

た如く、聴結節において対照 459, A 群 892, B 群 525, C 群 641 と音響刺激を与えた場合には、いずれもその値は増加している。下丘体においては対照 200, A 群 248, B 群 302, C 群 306 大脳皮質聴領域では対照 193, A 群 453 群, B 291, C 群 487 と聴結節におけると同様刺激回数を重ねるにつれ増加する傾向が認められた。

第3項 DHSM 中毒動物蝸牛神経中枢路への P^{32} の移行

DHSM 1 日 20mg 連続 35 日間総計 700mg 投与した動物の蝸牛神経中枢路終止核への P^{32} の移行は第 5 図の

第 5 図

如くである。酸溶磷分層における計数値は、聴結節において対照 189, DHSM 投与群 846, 下丘体において対照 91, DHSM 投与群 396 と正常動物のこの時期における酸溶磷分層 P^{32} の痕跡的なものに対し、DHSM 投与群ではいずれも甚しい増加を示している。大脳皮質聴領域においても対照群 212 に対し、DHSM 投与群 327 と増加しているが前二者程著しい増加は認められなかつた。核蛋白磷分層は聴結節における対照群 555, DHSM 投与群 379, 下丘体では対照群 291 DHSM 投与群 186 大脳皮質聴領域における対照群 445, DHSM 投与群 342 といずれも音響刺激の際に見られた一時増加の時期が認められず、直ちに減少する傾向を有している。リポイド磷分層においても聴結節、下丘体においては、夫々対照群 328, DHSM 投与群 283, 対照群 354, DHSM 投与群 218 とやや減少するが、大脳皮質聴領域においては対照群 261 DHSM 投与群 325 と却つて増加した値を示している。

第2節 in vitro における実験成績

第1項 正常組織への P^{32} の移行

ワールブルグ検圧装置内における P^{32} の脳髓組織への移行成績並びに同組織の酸素消費量は、第 2 表及び第 3 表に示す通りである。これ等の磷 1mg に対する Spe-

第 2 表 試験管内正常時成績 (ホモゲネート)

Slice Homog.	P ³²	全P量 (r)	全重量 (mg)	乾重 (mg)	爆 量 (mg)	O ₂ (Q ₂ μl/乾量)	c.p.m./組織重量 gr				c.p.m./磷 mg			
							酸溶磷	リポイド磷	核酸磷	蛋白磷	酸溶磷	リポイド磷	核酸磷	蛋白磷
1	H	2.5μc	526	165	39.5	1.19	31654	84	642	126	32270	46	4450	1060
2	H	"	457	138	34.5	0.59	33364	165	439	108	37390	73	3810	1006
3	H	"	491	151	37.0	1.72	42582	235	627	97	45532	135	3511	1917
4	CH	"	471	145	—	—	39726	76	26	35	42379	14	482	337
5	CH	"	410	128	—	—	42307	39	41	31	45830	22	770	298
6	CH	(—)	384	119	30.2	1.85	—	—	—	—	—	—	—	—

第 3 表 試験管内正常成績 (スライス)

Slice Homog.	P ³²	全P量 (r)	全重量 (mg)	乾重 (mg)	燥量 (mg)	O ₂ (O ₂ μl/乾量)	c.p.m./組織重量 gr				c.p.m./磷 mg			
							酸溶磷	リポイド磷	核酸磷	蛋白磷	酸溶磷	リポイド磷	核酸磷	蛋白磷
1	S	2.5μc	317	96	23.0	6.10	25881	344	745	156	29953	177	4527	3107
2	S	〃	567	166	42.7	6.17	29620	522	985	123	30910	220	9559	2884
3	S	〃	287	97	21.5	5.87	43011	286	702	311	48351	89	5835	2335
4	CS	〃	370	114	—	—	34095	85	55	28	37811	27	911	197
5	CS	〃	672	188	—	—	38777	60	51	11	40057	25	830	98
6	CS	(—)	552	159	39.1	7.25	—	—	—	—	—	—	—	—

specific activity を見ると、ホモジネート、スライス共に酸溶磷分層においては1分間計数値は38397, 36406と非常に大きな値を示す。リポイド磷分層への P^{32} の移行は、非常に少なくホモジネート84, スライス162である。

これに反し核酸磷分層への移行は非常に高く、ホモジネート3923, スライス6640であつた。この Specific activity はスライスでリポイド磷の約40倍ホモジネートで約46倍に相当する。同時に作製した P^{32} の倍数希釈による基準よりすると、これは投与 P^{32} の5%が核酸磷分層に移行した事になる。蛋白磷分層においてはホモジネートで1327, スライスで2775と核酸磷分層のそれよりも低い値を示している。いずれの場合にもスライスへの移行率はホモジネートのそれよりも上廻るが、 QO_2 に見られる程の大差は生じない。

又 P^{32} による汚染の程度を知るために設けた対照群では酸溶磷分層を除いたリポイド磷、核酸磷、蛋白の各分層共にホモジネートで18, 626, 317, スライスで26, 870, 147と問題にならぬ程の低い値を示している。即ち10% TCA によつて4回洗滌する事により、この程度迄汚染を防止し得ると言える。

又 P^{32} による酸素消費量への影響を見るための対照群もホモジネート1.85 スライス4.25と言う QO_2 を示し、 P^{32} の添加した組織の QO_2 との間に殆んど差違を認めない事より組織呼吸がこの程度の放射能により影響を受けない事が判つた。

第2項 DHSM による P^{32} 移行の変化

in vitroにおける蝸牛神経中枢終核への P^{32} の移行が DHSM によりいかなる影響を受けるかは第4表、第5表、第6表に見られる通りである。

QO_2 聴結節、下丘体、大脳皮質聴領域いずれの場合にも、ホモジネート、スライス共に DHSM 1r, 10r, 負荷した群では、DHSM を負荷しない対照群よりも増加しているが、100r 負荷の群では、 QO_2 の減少が認められた。この場合核酸並びに蛋白磷分層の Specific activity は聴結節並びに下丘体においては、スライスにおいてもホモジネートにおいても QO_2 に見られた如き DHSM 濃度に対するピークの「づれ」を生じないで、すべて DHSM 濃度の上昇に従い Specific activity は減少する傾向にある。しかもホモジネートとスライスの間では、その傾向に大差は認められなかつた。しかし乍ら in vivo の実験において認められたと同様結節においては下丘体よりもその減少の度が激しい事が明かとなつた。例えばホモジネートを用いた実験について聴結

第4表 DHSM による影響 (in Vitro) 聴結節核酸蛋白分層への P^{32} の移行

Slice Homog.	SM	QO_2	核酸(c.p.m./Pmg)	蛋白(c.p.m./Pmg)
H	1r	3.42	3366	1765
H	10r	3.64	2271	1429
H	100r	2.28	1485	963
H	0r	3.16	3527	1841
S	1r	6.82	4081	1985
S	10r	7.35	3415	1523
S	100r	4.91	2674	1156
S	0r	6.23	4693	2428

第5表 DHSM による影響 (in Vitro) 下丘体核酸蛋白分層への P^{32} の移行

Slice Homog.	SM	QO_2	核酸(c.p.m./Pmg)	蛋白(c.p.m./Pmg)
H	1r	2.37	2561	1136
H	10r	2.15	2108	927
H	100r	1.21	1573	816
H	0r	1.78	2814	1251
S	1r	5.67	3439	1438
S	10r	5.72	2815	1311
S	100r	4.05	2576	928
S	0r	4.98	3660	1625

第6表 DHSM による影響 大脳皮質聴領域、核酸蛋白分層への P^{32} の移行

Slice Homog.	SM	QO_2	核酸(c.p.m./Pmg)	蛋白(c.p.m./Pmg)
H	1r	4.51	4351	2574
H	10r	4.30	3676	2981
H	100r	3.16	3821	2162
H	0r	3.99	4238	2715
S	1r	8.01	5168	3359
S	10r	8.27	4361	3465
S	100r	6.75	5521	2617
S	0r	7.62	5729	3291

節と下丘体と比較した場合、核酸磷分層では聴結節においては DHSM 100r を負荷した時の Specific activity は 0r の時の約1/2.4であるが、下丘体においては約1/1.8であり、蛋白磷分層においても聴結節の約1/1.9に対し、下丘体では1/1.5である。大脳皮質聴領域においては、これも in vivo の場合と同様一定の傾向を把握する事はできなかった。

第3項 ビタミン A 及び ATP による影響

DHSM 中毒に対する薬剤としてのビタミン A 及び ATP の影響は第7表並びに第8表に示す如くである。

これ等薬剤を使用した場合には核酸燐分層においては Specific activity は ATP では対照 2389 に比し 4308, V.A では対照 2240 に比し 6550 といずれも 著明な増加を示している。蛋白燐分層においても ATP の場合対照 682 に対し, 1920, V.A の場合対照 889 に対し 1465 と同様の態度を示している。就中 V.A を使用した場合の核酸燐の増加は著明で薬剤を添加しない場合の2倍乃至3倍の値を示している。

第7表 ATP による影響

		QO ₂	cp.m./P.mg	
			核 酸	蛋 白
1	ATP (10 γ /cc)	7.28	4668	2347
2	ATP (10 γ /cc)	6.11	4341	1542
3	ATP (10 γ /cc)	7.92	3915	1873
4	对 照	5.48	2632	736
5	对 照	6.29	2145	627

第8表 V.A による影響

		QO ₂	c.p.m./P.mg	
			核 酸	蛋 白
1	V.A 25Unit/cc	6.27	7535	1879
2	V.A 25Unit/cc	5.51	5778	1078
3	V.A 25Unit/cc	6.81	6337	1438
4	対 照	5.82	2461	926
5	対 照	4.93	2021	853

第5章 考 按

放射性同位元素を利用する事の医学への導入は、治療面は別としても基礎医学の面においても輝かしい進歩を与え、今迄には夢想だにする事のできなかった生命の神祕のベールを次々と解きほぐしている。生体の物質代謝に関する従来の我々の知識は定性並びに定量法をもつてする事を根本としていた。この古典的とも言える研究法では得る事のできなかった代謝物質の動きが放射性同位元素の使用によつて把握する事が可能となり、静的生化学現象にのみ頼つていた生化学が動的生化学の面から解釈し得る時代になつたと言える。しかしながらこの同位元素を用いるためには、その目的に従つて考慮せ

なければならぬ事も少なくない。聴覚生理並びに病理を対象とする私の研究において、放射性同位元素をトレーサーとして用うるならばいかなる種類のものが最もその目的に合致するか、勿論各々意義はあるにしても聴覚機能の中樞神経成分の概念を追究するに何が至適であるかは、先ず私の考えねばならぬ所であつた。近年の神経化学の進歩は著しいものがある。多くのノーベル賞学者の努力によつて得られたものは、神経組織の物質代謝が含水炭素の代謝を基幹とするものであり、同時にこれに燐代謝が必須欠くべからざるものであると言う事実であつた。燐が含水炭素代謝にいかに関聯するかは、Cori & Cori¹⁾, Lohmann⁴³⁾, Racker & Krimsky⁴⁴⁾, Kun⁴⁵⁾, Peters, Schinclair⁴⁶⁾, Krebs, Lipmann⁴³⁾, Utter⁴⁾, Warburg²⁾, Embden⁵⁾, Meyerhof⁶⁾, Coxon⁷⁾, Weilmalherbe⁸⁾, Abood⁹⁾, McIlwain¹⁰⁾ 等の脳解糖呼吸系の研究によつて既に一つの体系が与えられている。即ち燐代謝を一つの指標として中樞神経機能の代謝全況をうかがい知ると言う事は、窒素、硫黄、炭素等他の同位元素を用うる以上に普遍性を有すると言う事ができる。又 P³² はその半減期、エネルギー等に就いても最も実験的に扱い易い性質を有している。私が放射性同位元素を用うるのに P³² を取上げたのはこのような理由のためである。

次に問題となるのは P³² の使用量である。中樞神経組織の物質代謝は“the master tissue of the body”としての意義のために特異な性格を有している。P³² を脳髄化学に用いた先覚の知識は Hevesy, Artom, Sarzana, Perrier, Santangelo & Segré²²⁾, Cohn, Greengard²³⁾, Bakay & Lindberg²⁰⁾, Sacks & Gulbreth²¹⁾, Aird, Campbell Murayama²⁶⁾, Borell Öström²⁷⁾, Dawson²⁸⁾, Ernster²⁹⁾, Samuels³⁰⁾, Boyarsky, Gerard, Libet, Brust³¹⁾, Schmidt, Kety³²⁾, Brierley³³⁾, Bodian³⁴⁾, Dziewaitkowski³⁴⁾, Richter³⁵⁾, Euler, H, Euler, U.³⁶⁾, Grande³⁷⁾, Mullins³⁸⁾, DeLuca, Strickrand⁴⁷⁾ 等の記述に示される如く、他の組織と非常に異つてゐる。即ち P³² が中樞神経に移行し難いがために大量用いなければならぬ事が暗示されている。而も私の欲する所は中樞神経系全体を対象とする脳髄化学に非ずして、その内で極少部分を占めるにすぎない聴中枢路の特性を求めんとする聴覚化学であり、用うる資料は余りにも僅少である。私が蝸牛神経中枢の終止核を分離別出し得る最小の動物として用いた白鼠に対して体重 gr に就き 1 μ c という大量の P³² を用いなければ

ばならなかつた事は、一つに用いる資料が僅少であるという理由によつてゐる。放射性同位元素が一般的に利用し始められた頃、その放射能による影響が常に云々された。私の使用量において脳代謝そのものが P^{32} radioactivity によつて変調をきたさぬかは当初恐れた点である。腫瘍細胞の如く物質代謝速度の速い細胞、分裂の盛んな細胞では、確かに影響の現われ得る事は、今木⁴⁸⁾等の論文においても示されている。しかし神経細胞は、分裂機構も営まない物質代謝の速度の遅い化学的には安定した細胞である。このようなものにおいては、その放射能の影響は無視し得るものと言える。Florsheim & Morton⁴⁹⁾ は 20000r の硬 X 線の照射によつて、 P^{32} の脳への移行は対照に比して変化を認めていない。事実 in vivo, in vitro を通じた私の研究において放射能による影響を疑わしめるような現象の出現は皆無であつた。

次に、分層分離手段においては考慮すべき事が余にも多い。この種実験では純粋成分の分離即ち Contamination の少い分層分離法と言うものは必要欠くべからざる要素となつてゐる。神経機能を云々するに当つて、矢張り最も重要性を有するものは核酸成分であり、殊に ribose nucleic acid (RNA) の重要性は Caspersson 以来 Hyden and Hamberger⁴⁸⁾ 等により余にも鮮かに示されている。殊に聴覚機構に關聯しての内耳螺旋神経節細胞の RNA の変化は単に神経細胞化学に新知見を呈出したのみならず聴覚生理にとつて興味ある事実を示したと言える。

一般に細胞機能を維持する上に重要な核酸の研究は、ここ数年來各分野において余にも多い。核酸を見るためには Feulgen⁵¹⁾, Unna Pappenheim⁵²⁾ による組織化学的な方法、Caspersson⁴⁵⁾ の紫外線顕微鏡による組織切片上の定性、定量の方法、及び Schneider³⁹⁾, Euler & Hahn⁵³⁾ の抽出法による糖成分反応、Kerr⁵⁴⁾ 等の塩基部分の定量、Schmidt & Thannhauser⁵⁵⁾, Schneider 等の燐量よりする方法と手段的には数々の実験法が挙げられている。 P^{32} をもつて核酸を見るためには、その核酸成分の分離について議論されている所が少くない。Schmidt & Thannhauser⁵⁵⁾, Davidson & Smellie⁵⁶⁾, Vladimirov⁵⁷⁾, Sacks⁵⁸⁾ 等分層分離法自体に対する検討がなされている。確かに Schmidt-Thannhauser の核酸分劃中には 25% もの他物質の混在があると云われているが如き Davidson の論述がある。即ち組織燐成分に対して核酸成分の分離法に就いては最近

特に進歩している如く見受けられる。

神経細胞中の核酸は核の DNA は殆んど機能的な意味を有しない。これは成熟神経細胞は細胞分裂を行なわず、DNA の交替率も極めて低い事によつても明かである。即ち神経細胞において重要な核酸は RNA であり、核、仁並びに細胞質ニッスル小体なる表現の下に含有されている。それが機能的にはるかに DNA に比し高度の意義を有している。DNA と RNA の交替率の比は、神経細胞において余りにも大なる差がある故に、核酸を問題にする時には殆んどそれは RNA によつて演ぜられている現象としても異存はないと考えられる。この神経細胞の一つの特性、及び対象とする蝸牛神経中枢路終止核の剔出分離資料が余りにも僅少であると言う理由のために私の実験では分割分離法と云うものは改めて考え直す必要がある。私の求めるものは神経細胞を主とした終止核において行われる燐代謝の概念を求める事であり、このために分割分離法により正確を期するためには僅か 10mg 前後の資料をもつて、複雑なる手段を用うる事は砂上の樓閣を築く憂いがある。

Davidson の方法を採用する事は、脳髓全体を対象とする時に用いられ得るが、終止核のみを対象とする時には実験誤差が余りにも大きく、判定を下す事が不可能であつた。私が Schneider の方法をもつて燐代謝を求めたのは、このような意味のためである。神経組織以外の組織において Schmidt-Thannhauser, Davidson, Hammersten⁵⁹⁾ 等の各分劃の比較の検討もかなり進んでおり、この知識を参考にし常に正常対照を正確に求めて行く事により、私の実験値を解釈する事が最も安全なる行き方と考える。中枢神経への P^{32} の移行を見る時、更に注意すべき事がある。それは P^{32} の移行が極めて低率であると言う事の他に移行に要する時間が甚だ遅く長期間を要すると云う事である。これは後述の如き、血液—脳関門のため及び侵入経路の問題等他組織と異つた所が多いためである。従つて中枢神経組織を追究するためには P^{32} 投与後時間単位の観察は無意味であり、長い間の観察が必要である。これは Bodian³⁴⁾, 水越⁶⁰⁾, 寺西⁶¹⁾ 等の研究にも示されているが、又一方短期間の観察によつてのみ、その代謝特性を解釈すると鈴木⁶²⁾ の如く、神経では P 代謝は差程必要でないと云うが如き概念を下さねばならぬ破目に陥り易い。即ち in vivo の実験において私の注意した事は以上の点である。

しかし乍ら in vivo の実験と云うものは生理機構を求めるためには是非とも必要ではあり P^{32} 投与後日を

追つて動物実験群を処理し、その推移を求める事は必要な一つの方法ではあるが、余りにも繁雑にして労多く効少なき手段と云わねばならぬ。in vivo において生理機構の大系が得られた後は、例えば薬物中毒の機構を明かにし、更にこれに対処する薬物の効果の制定をなすためには是非ともこれを試験管内において表現せしめる途を考える必要がある。同位元素の神経組織への移行を試験管内において行つた実験は少くない。いずれも後述の如き明らかな成績を示しているがこれ等の先学の記述を通覧して、私の疑問とする所は果して分離した神経組織が試験管内において正常の代謝機構を営んでいるかという事である。衆知の如く神経の死後変化なるものは極めて早いものである。その NH_4 の発生量の如きは、数秒間において数 10 倍に上昇するが如く、秒をもつて争わねばならぬ組織を用いて果してこの移行云々が意義があるかという事は甚だ疑わしい。 P^{32} の移行は O_2 によつて支配される事は Findlay, Rossiter & Strickland⁶³⁾ の研究にも示されており、又グルコースの代謝の完全なる事も勿論必須条件となつている事は Schachner, Fries & Chaikoff³¹⁾ も指摘している。いずれの実験においても通常我々が呼吸系の測定に用いるが如くグルコース添加 Krebs-Ringer 液に O_2 を用いて試験管内移行を検討されてはいるが、果してこれだけで正確なる代謝機構が演ぜられているかの確認は、対象が死後変化の早い神経組織なるが故に不十分である。解糖呼吸系を主軸とする神経組織においては O_2 の消費量と云うものが最もその代謝機構の指標となり得ると考えられる。Strickland⁶³⁾ 等の実験において試験管内に O_2 を以つて封じ、且つ 37°C の温度を厳密に保つ操作が行なわれているが、それに対する確認法はなされていない。それ以前の研究においては、特にこの点不十分と言える。神経組織の P^{32} 移行を、in vitro で演ずる研究をより確実化するために、私は O_2 消費量を同時に測定して、その間における P^{32} の移行を求める方法を採用した。 P^{32} 移行並びに呼吸系の測定を同時に行う私の方法は神経細胞のあらゆる生化学的条件下における P^{32} 移行を検討する事が容易であり薬物中毒時の病態の解明、及びこの時の薬剤効果のスクリーニング等に際して in vivo 実験と比較にならぬ簡便さを有しており、有意義なるものと信じている。正常動物に P^{32} を筋注した時、中枢神経への移行は他の組織に比して極めて緩慢なる経過を辿る。これは Dawson²⁸⁾ の綜説においても明確に示されている。私の正常動物における成績も P^{32} 注射後、

総隣では7日以後において最高の移行を示している。このような長期の観察を必要とする組織は、他には類を見ない。又この現象は少くも血中の P^{32} 量の推移曲線と交叉する時期がある事を意味している。組織細胞の P^{32} の濃度が血中のそれを上廻るという事は一見奇異な感じがするが、これは恐らく後述の Blood-brain-barrier を構成する酵素系、即ち毛細血管壁若くは細胞膜に分布する高度に特異化された酵素のための単なる拡散による以外の強制移行によるもの言換えれば神経膜のポンプ作用による Active transport によるものであらうと考えられる。この意味で P^{32} の移行は拡散作用によると云う説は否定されるべきであり神経の特殊機能を考えるならば、全身的に投与され血中に分布する P^{32} が一定時期の後、それ以上の濃度に神経組織に移行する事は当然必要な現象とも言えるのではないか、しかしこの現象は、他の面よりすれば血中の磷分割を更に詳しく細分する事によりその前駆物質としての型のものが明確になしうる事も考えられる。この神経組織への移行の小さな特性は、二つの面より考えねばならぬ。その一つには、近時かなり詳細な考察が加えられ始めている血液脳関門によるものであり、他の一つは細胞の密集度の問題によるものである。前者は Goldmann²⁴⁾ が Trypan blue を用いて初めて系統的な実験を行い、これに対する概念を明らかにした。彼は脳の神経細胞が脳脊髄液中の有毒物質は容易に吸収するが、循環血液中の Trypan blue はこれを吸収しない事を認めた。

これが研究手段として放射性同位元素が用いられるようになり、脳一血液関門に関する知見が次々と発表せられた。脳の代謝に重要な役割を演ずる磷も Artom, Sarzana, Perrier, Santangelo & Segré (1937)²²⁾, Coehn & Greenberg (1938)²³⁾ 等の P^{32} による実験によつて脳に入り難い事が立証された。この高度に特異化されたところの恐らく酵素の作用によるものであらう関門の存在こそ生命を支配する神経系に与えられた独特の性格であらうと思われる。

私の実験においても注射後7日目に脳中に検出された P^{32} 量はその百分率より求めると注射した P^{32} 全量の 0.5% に過ぎない。血中 P^{32} が脳に移行するのに2通りの経路が考えられる。即ち一つは脳実質中の毛細血管から直接入る路であり、今一つは脳脊髄液を経て入る路である。このいずれの路を選ぶかについては今日なお明確な解答が与えられていない。Bakay and Lindberg³⁰⁾ により、大槽内に注射した P^{32} は速かに蜘蛛膜下腔に拡がり、脳実質内に侵入する事が証明され、Borell and

Örström²⁷⁾は脈絡叢が P^{32} 摂取に対し活発な動きを示す事を指摘している。又 Friedmann⁶⁴⁾は染料を用いた実験で脈絡叢毛細血管は脳実質内毛細血管よりも透過性が高い事を示し、Borell and Örström²⁷⁾は白質よりも灰白質の方が毛細血管網に富んでいるにも拘らず P^{32} は灰白質よりも白質の方に速く侵入すると云う奇異とも云える成績を記載している。灰白質の毛細血管は 1mm^3 中に 100mm の延長を有し、白質はその数分の一とされている。筋肉は僅か 6mm であり、相似の糖代謝を営むものの毛細血管の差は著しい。即ち神経組織への血中を介する物質供給は、毛細血管の長さには比例せず、その部位における恐らく酵素支配による特性によつてゐると云う事ができる。又 Flexner⁶⁵⁾は脳実質内に侵入する血管並びに毛細管周囲の管腔内の髄液の動きは非常に緩慢且不規則なために、 P^{32} は拡散の現象によつてこゝを通り脳室及び蜘蛛膜下腔から脳組織内へ移行するのではないかと結論している。以上の如き事実から現在においては血液を介して与えた P^{32} は脳内血管を通じ直接に実質内に侵入すると云うよりも寧ろ一旦髄液中に出た P^{32} が脳実質内に入ると云う経路が重要視されている。

又ヒスタミンは家兎においては例外的に毛細血管の拡張を示さないにも拘らず神経組織への P^{32} の移行を促進せしめると云う Brierley²⁸⁾、Dale Laidlaw⁶⁶⁾の研究は脳髄毛細血管の透過性は血管拡張、収縮には関係せぬ特殊な閥門の意義を暗示していると云える。血液—脳閥門はこれ等血管の特異な selective permeability によるものであり、脳内毛細血管並びに脈絡叢、脳膜毛細血管の内膜の酵素的な働きによるものであるとする Riser, Spatz, Broman 等の説が最近多くの研究者により支持されている。

無機磷酸が脳に侵入し難い原因として以上の血液—脳閥門の特殊性を考慮に入れねばならぬのは勿論であるが、今一つの神経細胞の密集度と云う事も忘れる事のできない因子と考える。即ち神経中枢部においては神経細胞が代謝の場として最も重要である。しかも脳髄においては神経細胞は極めて散在的に分布しており、細胞密集度は他の臓器に比し非常に低いと言わねばならない。終止核における組織重量単位移行が脳髄平均値よりも高い値を示すのもこの理由によるものである。水越⁶⁰⁾は成熟白鼠の後脳オリブ核並に延髄の組織学的に殆んど神経細胞の分布しない部分への P^{32} の移行を比較し、

夏に鼠籠下にかけると腹腔と腹腔外の部との容積比を求め、神経細胞のみの specific activity の全体に対する比を数値的に算出し、神経細胞の Specific activity が非常に高い値を示す事を認めた。又 Radio autography

の成績にも見る如く神経細胞のみの代謝率は決して低いものではないと考えられる。これはまた神経化学現象の一般的現象で生化学的な研究数値はすべてこの点を考慮に入れて解釈せねばならぬ。近代神経生化学の進歩は目ざましい。しかしながら次々と現われる生化学の数値を読み取る上に少くとも中枢神経組織においては神経細胞のみにて営まれる化学変化があり、この時には脳組織の単位を神経細胞のみの重量に換算して解釈する必要を私は痛感している。無機の磷酸の形で与えられた P^{32} が脳へ移行するのは非常に遅いが、一旦脳に侵入した P^{32} は代謝の流れに乗り速かに ATP 及び Phosphocreatine 等の不安定な燐化合物に結合せられ、脳の唯一の力源である含水炭素代謝系に入りエネルギーを供給するものと云われている。実験成績にも見られる如く、脳では注射された P^{32} は先ず酸溶燐分層に入るが血中濃度が減少を示す3日後において最高値を示す。この所謂 over transport の現象も複雑な酵素系を有する脳の特異性によるものと解釈してよいのではないかと考える。一方神経細胞内への P^{32} の受け入れは細胞膜を構成すると考えられる酵素系によつてなされる如く考えられる。即ち Glucose より Glucose-6-phosphate へ、又 Glycogen より glucose-1-phosphate への過程が細胞膜において演ぜられるようであるが、無機 P^{32} も細胞膜を通過して細胞内に移行する時にはそのままの無機 P^{32} ではなく、有機 P^{32} の一員となる事が考えられる。私の試験管内実験において、スライスとホモジエネートの数値の差はこの細胞膜の現象を示すものである。酸溶燐分層においては与えた P^{32} がすべて含有される故、その現象を読みとる事はできないが、それ以外の分層への P^{32} の移行の差の大部分は細胞膜の存在、並に細胞の形態の完全なることと破壊されたことの差を示すものに他ならない。又一方この事実は細胞膜の生化学的機能、若しくは酵素的作用を保つために細胞としての形態を必要とするか否かを解決する上に一つの示唆を与えるものとも考えられる。私の成績によればこれ等の化学的機能は形態の完全なる時に最高の機能を有すると云う事が推論される。

リポイド分層への P^{32} の移行は in vivo, in vitro の実験を通じて非常に緩慢である。Fries, Changus and Chaikoff⁶⁷⁾が白鼠の脳及び脊髄の phospho-lipin fraction における P^{32} の検出は、その動物の年令の経過と共に急なカーブで減少し、体重 50g 以後は非常に緩か

なカーブを辿ると報告しているように成熟白鼠におけるリポイドの代謝はかなり安定なために侵入速度も遅れるのではないかと考えられる。しかし乍ら、神経組織の燐成分の大部分のものは Samuels³⁰⁾ の言う如くリポイド分層への移行が最も多いのではないかと考える。リポイド分層への試験管内 P^{32} 移行に関して、中⁶⁸⁾等は非常に高い数値を示している。しかし私の成績は非常に低い移行しか立証する事はできなかつた。前者の実験では神経組織が必要とする O_2 と $37^\circ C$ の温度と云う条件に難点があるが如く見受ける。 QO_2 を以て代謝進行機構を確認する私の方法で行えばやはり *in vivo* に見受ける現象と相似の現象を *in vitro* で立証する事ができるがもしこれが不完全であればリポイド代謝は他のそれに比して実際以上に誇張された数値を示す事が知り得る。神経組織の試験管内実験において注意を要する現象と指摘した。

又リポイドとは異り、核蛋白燐分層への移行が注射後7日目に最高値を示している事は核蛋白の更新速度の速かな事を指示したものである。これは Lindberg, Ernster⁵⁹⁾ の言う phosphorylation の速さによるものと思われる。即ち、彼等は白鼠の蜘蛛膜下腔に P^{32} を注入したところ脳中 P^{32} の40%が2分以内で有機的に結合する事を観察し、脳における phosphorylation の速度は筋肉におけるそれを凌駕すると述べている。同時に核蛋白代謝の神経組織に占める意義が大きくその交代率の高い事をも示している。恐らく Schneider³⁹⁾ の分割では酸溶燐分層は核蛋白燐分層の前駆物質的な意義を有し、密接な関聯を持つものと推察される。リポイド分層の他の分層との関聯性は明瞭にすることは難しい。

音響刺激を与えた時 P^{32} の移行は正常動物と異つた移行を立証する事ができる。即ち音響を負荷する事により蝸牛神経中枢路への P^{32} はいずれも先ず増加する事が立証された。但しリポイドに関しては音響刺激の影響は少い。而もこの P^{32} 代謝の活性化の現象は刺激の度が強くなれば逆に低下する。音響と云う機械的エネルギーが内耳受容器により化学的、電気的エネルギーに転換され、蝸牛神経路に充奮の伝達が起こる。この充奮伝達機構の活性化に伴う現象は本態的にはいずれの神経においても同様である。Grande and Richter³⁷⁾ は蛙の坐骨神経の通電刺激による P^{32} 移行の増加を立証した。Mullins³⁸⁾ は更に詳細なる検討を加え、神経に刺激を加えつつある時、即ち action potential の波が認められる間は P^{32} の細胞内への侵入は停止し、刺激が除去された

時、即ち action potential が resting potential に移行する時期において大量の P^{32} が細胞内に侵入する事、又静止細胞では一定の率で P^{32} の移行が行われている事を明かにしている。いずれにしても神経機能が活動する時 P^{32} 移行が上昇する事は明かである。即ちこの時には神経はあらゆる代謝系の活性化が起り、それに伴って燐代謝の活性化が要求されるものと思われる。即ち化学反応の進行に要するエネルギーの減少により、解糖呼吸系の進行の必要が惹起され、附燐現象等のために燐の受け入れが高まる事が明らかに立証できる。しかし更に驚くべき事には Palladin & Vladimirov⁶⁹⁾ は条件反射を利用してこの P^{32} の移行の上昇が実際の神経刺激を必要とせず、それと平行して条件づけられた他の刺激によつても起る事を指摘している。こゝに至つては上記の物質代謝の亢進と云う事より更に高位の酵素系の如きものの活性化による現象とでも考えざるを得ない事になる。しかしこれには猶検討を要する事があまりにも多いように感ぜられる。Hyden, Hamberger の研究により神経細胞の機能の維持には一定の蛋白量の保持が必要である事が暗示されている。神経の機能的充奮時にはこの蛋白は消失する。失われた蛋白の補給には RNA が必要なる事は論をまたない。これは Caspersson の示す所であり、又 Gale⁷⁰⁾ による成績の如く template としての RNA の蛋白合成に対する仕組みによつて行われると考えられる。私の核酸分層への P^{32} の移行の上昇せるものは、この軌道によつたものと推定できる。この RNA の合成には高エネルギー燐結合 ($\sim P$) が必要である事は三浦、伊藤⁷¹⁾ 等も指摘しているし、又一方 P^{32} の RNA への移行にも $\sim P$ の必要なる事を McIlmain, Buchel & Cheshire¹⁰⁾ が明らかにしている。即ち RNA 代謝の活性化のためにはエネルギー代謝の活性化が必要である。これには解糖呼吸系の活性化及びそれに併行した燐代謝の活性化が当然要求される。神経充奮に伴うこの一聯の連鎖反応が私の成績に示された P^{32} 移行の上昇の本態であるとするのが妥当である。しかしながらこの複雑なる一聯の反応系も刺激の強化に無制限に追隨する事は不可能な事は当然である。刺激が過度になれば何処かに不完全な反応の起る事は当然推測される。例えば筋肉の痙攣発作と云うものは神経の異常充奮のしからしめるものである。Hevesy and Ottosen⁷²⁾ はこの時神経組織中の glycogen, glucose, phosphocreatin, ATP は極度に減少し、乳酸, ADP 無機燐は増加する事を明らかにした。即ち異常充奮によつて含水炭素

代謝系が阻害され磷代謝率の低下が現われる可能性がある。強度の音響刺激によつて P^{32} の移行が見られる事は私の実験成績が明らかにこの事実を立証している。音響刺激による核酸代謝の低下はHyden等の紫外線分光分析学的研究成績と一致している。しかし化学変化がそこに到る迄に核酸代謝の上昇の現象が把握され得ると云う事を彼等は示していない。刺激の程度に応じて一応反応系が活性化し、次いで低下する事はある事であり、Caspersson 一派の理論も本質的には正しくとも聴覚に関する成績を聴覚生理の面に引用するには猶若干の検討の余地が残されているように感ぜられる。この事は宇野⁷⁶⁾の蝸牛神経路の抽出資料の紫外線分析の観点からも同様の点が指摘されている。

更に私の成績において、音響刺激に対する核酸分層への P^{32} の移行の変化は下位中枢及び高位中枢において大きな差が認められる。即ち下位中枢程その増減の度が甚だしいと云える。Hamberger, Hyden の行つたより下位にある螺旋神経節細胞における実験では 6000cps 80db 3時間と云う微弱な刺激において、もはや核酸並に蛋白の減少を認めている。このような事実は恐らく高位中枢側においては聴覚以外の神経の連合作用が混在してくるためであろうと推論される。リポイド分層への移行に関してはこのような傾向は把握し得なかつた。

[[Dihydrostreptomycin (DHSM) の副作用として現われる聴覚障害に関する研究は極めて多く見受けられるようになった。DHSM を連日投与せる実験動物に P^{32} を同様に与え対照と比較すると、酸溶磷分劃に対する P^{32} の移行が極めて高い数値を示し、他の分劃、核蛋白、リポイドへの移行が低い数値を示す事を立証した。本実験においては DHSM 投与群並に対照群ともに P^{32} 投与後5日目において断頭を行つたが、正常動物における P^{32} 移行の推移経過よりするとこの時期には酸溶磷分劃の P^{32} の移行は極めて低い数値を示すべき時期である。DHSM 投与により酸溶磷分劃 P^{32} が上昇すると云う事は前述の如く、この分劃中の P^{32} が核酸並に蛋白磷分劃の前駆的位置にある事実よりするならば、核酸蛋白の代謝障害を立証するものと云う事ができる。

又 in vitro の成績で得られたようにその影響は聴覚に甚だしく DHSM の濃度が極めて低くとも、核酸蛋白への P^{32} の移行は低下している。下位終止核において影響が大である事は興味ある成績ではあるがこの理由を考える事は難しい。恐らく DHSM によつて細胞の resting metabolism が低下し、このために機能的

活動的の active metabolism が営まれなくなる事が本態と思われる。実際、電気生理学的に DHSM 中毒時に過度の音響刺激が加わると、聴覚の疲労現象は容易に非可逆反応に陥り易い事が中村⁷³⁾によつて明らかにされている。蝸牛神経中枢において音響によつて生ずる神経活動の程度は低位中枢において、より甚だしく、且つ聴覚成分としての純度も高い筈である。聴覚節において DHSM 中毒によつて著変を証明したのはこの理由によるものと思われる。

P^{32} の核酸蛋白分劃への移行が DHSM によつて低下する事に就ては二つの事が考えられる。即ち核酸蛋白等の代謝機構の活性低下によつて P^{32} の移行の低下を現わしたものとの解釈と、もう一つは磷代謝の障害のために核酸、蛋白等の代謝が低下したものとの解釈が可能である。蝸牛神経中枢路の神経細胞における DHSM による変化については中村、水越⁷⁴⁾によつて広角度より検討され、ミトコンドリアを構成するリポ核蛋白の病変が核酸染色(只木⁷⁵⁾) 紫外線分析(宇野⁷⁶⁾)等によつて実験されている。又組織学的に神経細胞のチグロリーゼを証明したものは非常に多い。又一方 Aboud⁷⁷⁾は、DHSM が神経組織の Pyruvate, Glucose, Malate の酸化を抑制する事を明らかにし、兵⁷⁸⁾も同様 DHSM による解糖呼吸系の障害を立証している。中村等は DHSM 中毒動物において聴中枢路組織の $\sim P$ が著明に減少している事を7分水解磷の測定によつて明らかにしている。McIlwain, Buchel & Cheshire⁴⁰⁾は P^{32} の RNA への移行には $\sim P$ が必要である事を指摘している。

即ち DHSM による核酸蛋白への P^{32} 移行の障害は、核酸、蛋白代謝そのものによる障害の二次的磷代謝の障害と磷代謝自体の障害による核酸、蛋白代謝の障害の二つの現象を同時に表現しているものと考えらるべきで、DHSM による聴覚障害の原因の一端がこゝに明確に示されている。

in vitro 実験法を利用して DHSM による障害に対する治療手段を求めめるために、先ず ATP の影響を求めたが、ATP によつて阻害された P^{32} の移行は著明に回復する成績を得た。この種実験には ATP を基質成分として利用する事が通常行われているが、この現象は臨床的に展開せしめる事ができるのではないかとと思われる。近時 ATP を治療薬として用うる途が検討されている。ATP の如き不安定なるものを臨床的に利用する事は難しい。殊に ATP-Na は製品化する事は事実

上困難である。又比較的安定なる ATP-Ba の如き型をそのまま生体に用いてそれがエネルギー補給として意義があるか否かは疑わしい。ATP-Na とタウリン酸とを結合せしめる等、この臨床的応用の努力が今日一部において続けられているが、生化学現象の本態を徹く高エネルギー燐結合の応用が、DHSM 中毒治療等に行われて不合理である理由は皆無である。この方面の薬物学の進歩を願つて止まぬ。

次に Vitamin A を取り上げた理由は 1935 年 E. Mellenby は Vitamin A 欠乏食を動物に与えた実験において迷路骨胞における骨形成の増加、蝸牛神経コルチ氏器官等内耳組織の変性を報告して以来、臨床的に難聴に Vitamin A を用い得る事を示唆する実験が続いて出てきた。しかし乍らこれが根拠は、先ず第一に上述の如く Vitamin A 不足に伴う末梢聴器変化が存在する事、第二に内耳並びに神経組織が発生学的に外胚葉系に属するが故に同組織に対する Vitamin A の賦活作用を報告した Lobel⁷⁹⁾ の考え、この二つに要約される。

又臨床的に DHSM 難聴に Vitamin A を利用して予防的には一応の効果ある事は中村⁸⁰⁾ も明らかにしている。この効果の本態が P^{32} 代謝の面からどのように意義があるかを検討した成績では、やはり P^{32} 移行の障碍の恢復する事実を立証する事ができた。

即ち DHSM 中毒の病理の - 因をなす燐代謝の阻害が Vitamin A によつて恢復する事は現在のところでは、外胚葉系組織としての神経組織に対する全般的な賦活作用としての他にその意義を細かく求める事が許されないが、その賦活作用の - 因が燐代謝を通じている事は注目に値する事実と思われる。

神経化学領域の医学の進歩と共に燐代謝の関与性は益々重視されている。私は音響と云う蝸牛神経中枢路にとつては機能的な条件の下に含まれる active metabolism としての燐代謝並に DHSM 中毒と云う細胞の resting metabolism に失調を起す時の燐代謝の一端を明らかにした。細胞が active metabolism を営むためには resting metabolism が完全でなければならぬ。

この両過程において燐代謝は必須のものであり、これによつて聴覚機能を維持するための生理機構の - 生化学的現象がこのところにかかわれるものと思われる。生体現象と実験的な現象とは、考え方によれば永久に交わらざる平行線と云う事ができよう。放射性同位元素を使用する動的生化学実験がこの二平行線をつなぐ能力を有している。僅少の資料で精密なる分割分離法を行い得る

と云う如き手段的な展開が更に聴覚生理の生化学的解明を導く事を希つて止まぬ。

第 6 章 結 語

① 蝸牛神経中枢路の神経組織の動的生化学現象の一端を知るために、並びに聴覚生理の生化学的組織機構を追究する目的で白鼠蝸牛神経中枢路における、放射性同位元素 P^{32} 代謝の研究を行った。

② 正常時においては、中枢神経組織への P^{32} 移行は極めて少く、又長期間を要する。

③ P^{32} は先ず酸溶燐分割に移行し、次いで核酸蛋白分割への移行が行われる。リポイド分割への移行は、時期的には最も遅いが、量的には高値を示す。5000cps, 110phon の純音を与える事により蝸牛神経中枢路の核酸蛋白への P^{32} の移行は刺激時間が少ければ上昇する。この現象は聴結節等下位終止核において著明である。

④ 音響刺激が高度になれば P^{32} の移行は低下する。

⑤ 強度音響負荷による P^{32} 移行の低下は下位終止核において時期的に早期に現われる。

⑥ リポイド燐の代謝は、音響刺激により著変を現わさない。

⑦ DHSM 投与によつて核酸蛋白への P^{32} の移行は障碍される。

⑧ DHSM によるこの病変は、音響刺激の場合と同様下位終止核において著明である。

⑨ in vivo のこれらの成績を in vitro において適確に表現する方法として Warburg 装置による検圧下 P^{32} 移行の実験法を考案した。

⑩ 酸素消費量を指標として代謝機構の確認を行えば、in vitro の P^{32} 代謝は in vivo におけると同様の傾向を示す。

⑪ DHSM 中毒時における V.A 及び ATP 製剤の治効的意義について検討した。

⑫ 含水炭素代謝を主軸とする神経組織において燐代謝はこの機能維持のために必須欠くべからざるものであると思われる。

参 考 文 献

- 1) Cori, G.T. & Cori, C.F.: J. biochem. 135, 733, 1940.
- 2) Warburg, O., Posener, K., u. Negelein, E.: Biochem. Z. 152, 309, 1924.
- 3) Ochoa, S.: J. biol. Chem., 138, 753, 1941.
- 4) Utter, M.F.: J. biol. Chem., 185, 499, 1950.
- 5) Embden, G., Deuticke, H.J. u. Kraft, G.: Klin. Woch. 12, 213, 1933.
- 6) Meyerhof, O. & McEachern, D.: Bio-

- chem. Z. 260, 417, 1933. 7) *Coxon, R.V.*: Metabolism and function in the nervous tissue, Cambridge 1952. 8) *Weil-Malherbe, H.*: Die Chemie u. der Stoffwechsel des Nervengewebes, 48. Berlin, Springer. 1952. 9) *Abood, L.G., Gerard, R.W. & Tschirgi, R.D.*: Phosphorus Metabolism. Bd. W.D. McLroy and B. Glass 1952. 10) *McIlwain, H.*: Biochemistry and the Central Nervous System. London, J. & A. Churchill 1955. 11) *Krebs, H.A.*: Chemical Pathway of Metabolism. 1, 109, 1954. 12) 中脩三: 神経化学, 医学書院, 171, 1954. 13) *Lipmann, F.*: Advances in Enzymol., 1, 99, 1941. 14) *Hyden*: Die Chemie u. der Stoffwechsel d. Nervengewebes. 15) *Schultz, J. & Caspersson*: Cell growth and cell function, New York 1950. 16) 荒木, 米沢: 医学のあゆみ, 23, 314, 1957. より. 17) *Hevesy, G.*: Biochem. J. 17, 439, 1923. 18) 吉川, 野口: 化学の領域, 増刊24号, 1956. 19) *Chiewitz, C. & Hevesy, G.*: Nature, 136, 754, 1935. 20) *Bakay, L. & Lindberg, O.*: Acta physiol. scand., 17, 179, 1949. 21) *Sacks, J. & Gulbreth, G.G.*: Amer. J. physiol. 165, 251, 1951. 22) *Artom, C., Sarzana, G., Perrier, C., Santangelo, M. & Segrè, E.*: Nature, Lond., 139, 836, 1105, 1937. 23) *Cohn, W.E. & Greenberg, D.M.*: J. biol. Chem., 123, 185, 1938. 24) *Goldman, E.E., Bakay, L.*: The Blood-Brain Barrier, Charles C. Thomas, U.S.A. 1946. 25) *Spatz, H.*: Arch. Psychiatr., 101, 268, 1934. 26) *Greenberg, D.M., Aird, R.B., Boleter, M.D.D., Campbell, W.W., Cohn, W.E. & Murayama, M.M.*: Amer. J. physiol., 140, 47, 1943. 27) *Borell, U. & Öström, A.*: Biochem. J. 41, 398, 1947. 28) *R.C.M. Dawson*: Metabolism & Function in Nervous tissue 97, 1952. 29) *Lindberg, O. & Ernster, L.*: Biochem. J. 46, 43, 1950. 30) *Samuels, A.J., Boyarsky, L.L., Gerard, R.W., Libet, B. & Brust, M.*: Amer. J. Physiol. 164, 1, 1951. 31) *Schachner, H., Fries, B.A. & Chaikoff, J.L.*: J. biol. chem. 146, 95, 1942. 32) *Kety, S.S. & Schmidt, C.F.*: J. clin. Invest. 27, 484, 1948. 33) *Brierley, J.B.*: Private communication 1951. 34) *Bodian, D. & Dziewaitkowski, D.*: J. cell. comp. physiol. 35, 155, 1950. 35) *Dawson, R.M.C. & Richter, D.*: Proc. roy. Soc. B, 137, 252, 1950. 36) *Euler, H., Euler, U. & Hevesy, G.*: Acta physiol. scand. 12, 261, 1946. 37) *Grande, F. & Richter, D.*: J. physiol. 110, 11, 1949. 38) *Mullins, L.J.*: Fed. Proc. 9, 93, 1950. 39) *W.C. Schneider*: J. Biol. Chem., 161, 293, 1945. 40) 菊地, 脇坂, 明石, 浜, 河野, 藤岡, 赤木: 最新医学, 6, 822, 1951. 41) *Fiske, C.H. & Subbarow, Y.*: J. Biol. Chem., 66, 375, 1925. 42) *V.R. Potter & C. Elvehjem*: J. Biol. Chem. 114, 495, 1936. 43) *Lohmann, K.*: Biochem. Z. 262, 137, 1933. 44) *Racker, J. & Krimsky, E.*: J. biol. chem., 173, 519, 1948. 45) *Kun, E.*: Proc. Soc. Exp. Biol., N.Y., 75, 68, 1950. 46) *Peters, R.A. and Sinclair, H.M.*: Biochem. J. 27, 1910, 1933. 47) *De Luca, H.A., Rossiter, R.J. & Strickland, K.P.*: Biochem. J. 55, 193, 1953. 48) 今木: 京府医大誌, 53. 49) *Florsheim & Morton*: Am. J. Physiol., 176, 15, 1954. 50) *Hamberger & Hyden*: Acta Oto-Laryng. Suppl., 61, 1945. 51) *Feulgen, R., Rossenbeck, H.* 52) *Unna Pappenheim* 53) *H. Euler & L. Hahn* 51)—53) 江上不二夫: 核酸及び核蛋白質, 上, 共立出版, 1953. より. 54) *Kerr*: J. Biol. Chem., 132, 147, 1940. 55) *Schmidt & Thannhauser*: J. Biol. Chem., 161, 83, 1945. 56) *Davidson, J.N. & Smellie, R.M.S.*: Bioch. J. 52, 599, 1952. 57) *Vladimirov*: 神経系の生化学, A.V. Palladin 松本訳, 協立書店, 1957. 58) *Sacks, J.*: J. Biol. Chem. 181, 655, 1949. 59) *Hammarsten, E.*: Acta med. scand. 128, suppl., 196, 634, 1947. 60) 水越: 日耳鼻, 59, 1, 33, 1955. 61) 寺西: 京府医大誌, 62, 1, 1, 1957. 62) 鈴木: 最新医学, 11, 10, 2420, 1956. 63) *Findlay, J.M., Rossiter, R.J. & Strickland, K.P.*: Biochem. J. 55, 200, 1953. 64) *Friedemann, U. & Elkeles, A.*: Ztschr. ges. exper. Med. 74: 293, 1930. 65) *Flexner, L.B.*: Quart. Rev. Biol., 8, 397, 1933. 66) *Dale, H.H. & Laidlaw, P.P.*: J. physiol. 41, 318, 1910. 67) *Fries, D.A., Changus, G.W. & Chaikoff, I.L.*: J. biol. chem., 132, 23, 1940. 68) *Naka, S.*: Kyushu memo. Med. Scien. 3, 203, 1950. 69) *Palladin & Vladimirov*: 自然 11, 1, 1956. 70) *E.F. Gale & J.P. Folkes*: Biochem. J. 59, 1955.

71) 三浦, 伊藤: 細胞化学シンポジウム, 丸善, 1957.
 72) *Hevesy & Ottosen*: Acta physiol. scand. 5, 237, 1943. 73) 中村: Ann. Oto. laryngol. unpubl. 74) 中村, 水越: 日耳鼻, 61, 7, 1958. 75) 貝木: 未刊. 76) 宇野: 日耳鼻, 61, 7, 1958. 77) *Abood*: Phosphorus metabolism. 2, 1951. 78) 兵: 未刊. 79) *Lobel*: Eye, Ear, Nose and Throat Monthly 28, 213, 1949. 80) 中村: 臨床内科小兒科, 9, 9, 1954.

本論文の要旨は下記学会において発表した.

- ① 第50回近畿精神々経学会総会(昭29.2.大阪)
- ② 第55回日本耳鼻咽喉科学会総会(昭29.5.東京)
- ③ 第14回近畿耳鼻咽喉科学会(昭29.6.京都)
- ④ 第51回近畿精神々経学会総会(昭29.7.奈良)
- ⑤ 第52回近畿精神々経学会総会(昭29.10.京都)
- ⑥ 第15回近畿耳鼻咽喉科学会(昭29.11.徳島)
- ⑦ 第53回近畿精神々経学会総会(昭30.2.大阪)
- ⑧ 第56回日本耳鼻咽喉科学会総会(昭30.4.京都)
- ⑨ 第54回近畿精神々経学会総会(昭30.6.神戸)
- ⑩ 第16回近畿耳鼻咽喉科学会(昭30.6.高槻)
- ⑪ 第17回近畿耳鼻咽喉科学会(昭30.11.名古屋)
- ⑫ 第57回日本耳鼻咽喉科学会総会(昭31.6.札幌)

稿を閉するに臨み、御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師中利文雄教授に深甚なる謝意を呈すると共に、常に変らざる御指導御鞭撻を戴いた水越治博士に衷心より感謝の意を表する。

(原稿到着=昭和33.5.7日)

確認された止血効果...

肺出血・胃腸出血・脳出血・痔出血

月経過多・歯出血・手術前後の出血

アドレノクローム新誘導体

アドナAC-17

(AC-II)

田辺製薬

社会保険適用

静脈・筋肉・皮下注可能

2cc (10mg) 10管・50管

5cc (25mg) 静脈用 10管・50管