

脳浮腫の生化学的研究

東邦大学医学部第2外科学教室（指導：栗津三郎教授）

荏 原 光 夫

（原稿受付 昭和38年12月23日）

Biochemical Studies on Experimental Brain Edema

by

MITSUO EBARA

From the 2nd Surgical Division, Medical School Toho University

(Director : Prof. Dr. SABURO AWAZU)

In order to clarify the biochemical basis of brain edema, chemical changes including water contents, electrolyte distribution, free amino acid contents and phosphorus metabolism in the brain were studied.

An experimental brain edema was produced in dogs using the special vibration apparatus and in guinea pig by freezing.

The following results were obtained :

1) Being measured by the modification of Hatschek's cobalt chloride method, free water showed a slight increase in dog cerebral gray matter on experimental brain edema.

In accordance with chloride and inulin assumption, intracellular water was significantly elevated on vibrated group of dogs.

On guinea pig brain edema, the same changes of electrolytes and water contents as seen in dog cerebral cortex were observed and water contents revealed the maximum level at 24 hours after freezing.

2) Assuming chloride and inulin spaces in dog gray matter of the vibrated group, intracellular water and potassium tended to increase, but intracellular sodium and chloride were decreased considerably.

3) It was observed that the penetration of P^{32} through blood-brain barrier, blood-cerebrospinal fluid barrier or cerebrospinal fluid-brain barrier was getting more easily on vibrated and frozen groups.

4) P^{32} incorporation into phosphorus compounds in dog brain cortex was measured after intracisternal injection of 2 mc p^{32} .

Specific and relative specific activities were determined on acid soluble phosphorus, phospholipid-P, nucleic acid-P and phosphoprotein-P.

The significant difference between the vibration group and control one was not seen

on relative specific activities of nucleic acid P and phosphoprotein-P.

On the other hand, the relative specific activity of phospholipid fraction noted marked elevation in the vibrated group.

5) Experimental brain edema resulted in the decrease of GABA and aspartic acid contents of cerebral cortex, and the elevation of glutamic acid.

Free amino acids in cerebral cortex were very changeable by the effect of the anesthetic agent.

Using pentobarbital sodium as an anesthetic, contents of GABA and aspartic acid were increased, but glutamic acid tend to decrease.

緒 言

近年交通機関の発達および産業の近代化とともに脳外傷の発生頻度は年々激増の一途を辿っている。

脳外傷時外傷による直接の脳損傷でなく、二次的に発生する脳浮腫が予後を左右し、生命をも失う原因となることもしばしばある。

この脳浮腫は脳外傷のみならず、脳腫瘍、脳膿瘍あるいは脳手術の術中、術後に随伴して発生する現象であり、脳外科領域においては極めて重要な問題を提起している。

しかし脳浮腫の研究に際して決定的欠陥は臨床例では時間的要素および、病変程度を任意に、しかも一定に選択することは困難である。

そこで脳浮腫の問題をより正確に把握するためには、一定条件で試みられた動物実験が絶対に必要となってくるのである。

著者は一定な脳浮腫を確実に作成し、しかも脳脊髄液中に血液の混入を避ける必要があるので犬においては頭部振盪法を、また、脳浮腫時の主として経時的变化を追求する際にはモルモットを用いてクロールエチルによる硬膜外凍結法により脳浮腫を作成した。

実験的脳浮腫に関連した研究は多いが³⁾¹²⁾²⁴⁾²⁵⁾⁴²⁾⁴³⁾⁴⁴⁾、脳組織の水分分布に変化をきたし脳容積の増大する状態を他組織、他臓器の浮腫との類推により脳浮腫と呼んでいたが、1905年、M. Reichardt⁴⁵⁾が脳浮腫を二つの概念に分類し、脳組織における細胞間の水分増加を狭義の脳浮腫、また膠質結合水の増加によつて細胞内水分増加のために脳容積の増大したものを脳腫脹と定義した。

しかるに近年電子顕微鏡的研究の結果、脳浮腫時の形態学的変化について、De Robertis¹¹⁾、Farquhar¹³⁾、Luse³⁰⁾らの報告があり、脳浮腫時の水分変動は主として細胞内にみられると考えられるに至つた。

最近ではReichardtの定義した脳浮腫の二つの概念は同一の病態変化と考えられ、これらは時間的経過や浮腫の程度によりそれぞれ差異が生ずるのであるとみられるようになった³⁰⁾。

このように脳浮腫の本質的な問題である水分変動についても詳細には、なお解明されていない。そこで脳浮腫時の含水量、水分、電解質変動を測定したが、脳組織では他組織の浮腫とは異なり血液脳関門現象が大きな役割を演じていることに着目し、P³²を用いて血液脳関門の選択的透過性の問題を追求し、さらに水分、電解質変動もクロライドスペース、イオニンスペースを算出し、細胞内、外相に分けて検討した。

また、脳浮腫時、とくにその早期において脳髄が如何なる代謝過程により支えられているかを追求することは非常に重要なことと考えられる。そこで主としてP³²を用いたリン酸代謝の面と、大脳皮質遊離アミノ酸を定量することによりアミノ酸代謝について検討を試みた。

実験方法

1. 実験的脳浮腫作成法

A) 頭部振盪法

実験に使用した動物は健康な体重10~15kgの成熟雄犬である。10% Na-Pentobarbital 25mg/kgにて静脈麻醉後、舌沈下、口内分泌物による気道閉塞乃至呼吸抑制を防止するため、すべてに気管内挿管を行なつた。実験的脳浮腫作成法は種々試みられて来たが⁷⁾⁸⁾²⁰⁾²⁴⁾⁴³⁾⁵⁹⁾、一定な脳浮腫を確実に作成し、しかも本実験では髄液中に僅かな血液の混入も絶対に避ける必要があるもので、第1図に示すような頭部振盪装置を用いて脳浮腫を作成した。

即ち実験犬の頭部を固定板上に固定し、左右振巾1.2cm、毎分1500回の振動を正確に一時間これに与える

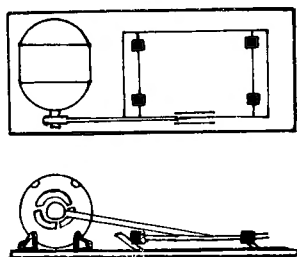


Fig. 1 Vibration Apparatus

ことにより脳浮腫を惹起させたものである。

振盪終了後、水分、電解質測定の際には5%イヌリン0.5mlを、また、血液脳関門およびリン酸代謝の実験においては、tracer doseの P^{32} を大槽内に注入した。振盪終了後4時間で屠殺し脳組織を摘出した。

Na-Pentobarbitalによる麻酔の影響を考慮するため、振盪せず麻酔のみ施行したものを対照群とした。

B) 硬膜外凍結法

体重300g前後のモルモットをエーテル麻酔後、頭部を正中切開して左側頭頂部に直径5mmの骨窓を作り、硬膜外より3cmの距離からクロールエチル5mlをsprayして凍結させ1時間硬膜を空气中に露出させ脳浮腫を作成した。凍結直後、2時間、4時間、24時間、48時間後にそれぞれ頸動脈切断により瀉血後大脳両半球を摘出した。

摘出した脳組織について凍結側、非凍結側に分けて、脳含水量、電解質変動ならびに大脳皮質遊離アミノ酸の経時変化について追求した。

2. 実験試料の採取

血液は四肢の静脈から溶血を防ぐために、heparinを使用して採血した。

髄液は麻酔下に後頭部を剃毛し、小児ルンバール針を用いて大槽穿刺を行ない、自然に流出する髄液を採取した。一部は同時に髄液圧も測定した。

屠殺時には頸部大血管を切断後、直ちに切断面を流水中でもむと共に、両側眼球を圧迫して頭蓋内血液を十分に流出させ、頭蓋内残留血液を一定にするように努めた。その後直ちに頭蓋骨を開頭ドリルを用いて開頭し頭蓋底部各脳神経および脳幹部を切断して脳髄を摘出した。摘出した脳髄は硬膜を切除し、軟膜、血液の凝塊を除去して、必要に応じて一定量を採取した。

モルモットのばあいには頸動脈切断瀉血後開頭して脳組織を摘出した。

3. 脳含水量測定法

安部²⁾によるHatschek変法を行なった。頸動脈切断により屠殺後できるだけ速かに頭頂部から脳薄片を採取し、灰白質、白質について自由水、結合水を以下の方法に従って測定した。

脳薄片採取 脳軟膜、凝血塊除去

10%塩化コバルト中で12時間浸漬→赤変

濾紙で水分除去 秤量…… P_0

30℃恒温槽 8～12時間

脱水し青変 秤量…… P_1

100℃乾燥器 数日間

灰黒色恒量 秤量…… P_2

$$\text{自由水} = \frac{P_0 - P_1}{P_0} \times 100 (\%)$$

$$\text{結合水} = \frac{P_1 - P_2}{P_0} \times 100 (\%)$$

全水 = 自由水 + 結合水

4. 磷酸分画方法及び化学的定量法¹⁴⁾

大脳皮質500mg前後を、冷却した10%三塩化酢酸(TCA)4mlを入れたPotter-Elvehjem型のガラスHomogenizerに移し、30秒間homogenizeした。Homogenateを遠心分離した後、上清0.1mlをブランシェット上にとり、放射能を測定した。残りの上清はMg-Treatmentを2回行ない、無機リンを除いた後60%過塩素酸により湿性灰化し酸溶性リンとして定量に供した。

残渣はさらに10% TCAで洗滌後磷脂質分画をとる目的で95%Ethanol 5mlで2回抽出後、さらにEthanol-Ether (3:1) Mixture 5mlで4℃一昼夜放置した。

これに冷却した0.1N HCl 5mlを加えて遠心分離を行なうと上下二層に分離し、中間に円板状形成が生ずる。上層部は捨てて下層は磷脂質分画とした。

円板状デスクは5% TCA 5mlを添加し95℃15分2回抽出しMg-Treatmentを行ない核酸分画として定量に供した。

更に残渣についてFindlay¹⁵⁾の方法に従って磷蛋白質の分画を行なった。即ち前記の残渣を5% TCA 5mlで洗滌後、1N・NaOH 2mlを加え37℃15時間の加水分解を行ない、その後6N HCl 0.3mlを加えて中和し、さらに10% TCAを添加後遠心分離を行なった。TCA溶性リン中の無機リンを磷蛋白分画(以下P.Pと略す)、Mg-Treatmentにより無機リンを除いた酸溶性分画をResidual Organic P(以下R.O.Pと略す)とし、残渣をResidual P(以下R.Pと略す)とした。

各分画について一定量を燐定量に供し、同時に同一資料で放射能の測定を行なった。

磷定量の方法はAllenの方法と Martin-Doty の方法を併用した⁶¹⁾。放射能測定は、Geiger-Müller Counter により行ない、Background, Time Decay を補正した。

P³²の Incorporation は counts/min/μgP (Specific activity) として表わし、さらに酸溶性磷分画で Mg-Treatment を行なわない前の一定量を以て各分画の Specific activity を除して relative Specific Activity を求めた。

5. 電解質及びイヌリン定量法

電解質および水分量の測定には脳組織 300mg 前後を採取し Torsion-balance で秤量後、乾燥器内で 110°C 数日間乾燥後再び秤量して乾燥重量を測定し、その差を全水分量とした。ついで乾燥組織片を20倍の0.1N硝酸に一昼夜放置後、Cl は Charles-Charles⁴⁹⁾ の Semimicro-method により、また、Na, K の定量は Beckmann 分光光度計で焰光法により測定した。血液、髄液のばあいも Na, K, Cl とも組織と同様に行なつた。

イヌリンの定量は Higashi & Peters²¹⁾ の方法により測定した。即ち脳組織 500mg を秤量後、冷却した 8% TCA 5ml を加えて20分放置後 Potter-Elvehjem 型ガラス Homogenizer で homogenize しその上清部分から 2ml をとり、これに Resorcin 3ml および Ferric chloride 3ml を氷冷中で加えて 79~79.5°C に熱して反応させ、480mμ にて比色定量した。

血液および髄液のばあいには、16% TCA 5ml を加えて遠心分離し、以下は組織のばあい準じて比色、定量した。

6. 脳内遊離アミノ酸定量法

脳内遊離アミノ酸の定量は、塚田ら⁵⁸⁾ のペーパークロマトグラフィーを用いた方法で行なつた。剔出脳組織200mg を 75% アルコール 2ml で Potter-Elvehjem 型ガラス Homogenizer で homogenize し遠心分離後上清を小

型ビーカーに移し、さらに同量の 75% アルコールを加え沈渣を洗滌後遠心分離し、前試料とあわせて送風下で乾燥した。次いで 0.5ml の水を加えて試料を溶解させ、小試験管に移し、このさい水飽和クロロホルム 3ml を加えて容器を洗い、試験管に移して遠心分離すると 3 層に分離する。一番上層の水層部分の一定量を濾紙にぬり展開した。展開溶媒はフェノール：水 (4 : 1) を使用し、展開時間は 15~18 時間 (室温 10~20°C) である。次いで展開溶媒を濾紙から十分除去するため室温で 2 日以上乾燥した。

発色は十分乾燥した濾紙を 0.15% ニンヒドリン・純アルコール溶液に十分浸した後、70°C 30 分間乾燥器内で加熱、発色させた。

濾紙上の各アミノ酸のスポットを常に同一濾紙上で展開した標準アミノ酸と対比しながらマークして切りとり、各試験管に入れ、60% エタノール 5ml を加え、時々振盪しながら 20 分以上放置し完全に抽出された後、570mμ にて比色定量した。

実験成績

1. 脳含水量

第1表、第2表は犬の脳頭頂部における灰白質および白質の含水量を Hatschek の塩化コバルト法により測定した成績である。

灰白質では対照群の自由水が 71.1% であるのに対して振盪群では 73.1% を示し、2.0% の増加がみられた。結合水には殆ど変化がみられず、全水として振盪群では 2.9% の増加を示したが、増加の割合は大部分が自由水であつた。

白質では灰白質に比べて全体的に自由水が少なく結合水が多い傾向を示した。対照群と振盪群の差は全水

Table 1
Water Content of Cerebral Gray Matter (%)

Control			Vibration		
Free Water	Bound Water	Total Water	Free Water	Bound Water	Total Water
71.0	6.1	77.1	73.2	6.2	79.5
71.7	6.1	77.8	72.6	6.0	78.6
71.0	6.0	76.9	73.9	6.4	80.3
71.2	6.1	77.3	73.2	6.2	79.1
69.8	6.0	75.8	72.9	6.1	79.0
71.6	6.1	77.7	73.0	6.1	79.1
71.1	6.1	77.1	73.1	6.2	79.3

Table 2
Water Content of Cerebral White Matter (%)

Control			Vibration		
Free Water	Bound Water	Total Water	Free Water	Bound Water	Total Water
60.9	9.3	70.3	61.6	9.5	71.1
59.8	9.1	68.9	62.2	9.6	71.9
60.4	9.2	69.6	60.9	9.3	70.1
59.7	9.1	68.8	62.0	9.5	71.6
61.4	9.5	70.9	61.2	9.4	70.6
61.1	9.4	70.5	61.7	9.4	71.1
60.6	9.3	69.8	61.6	9.5	71.1

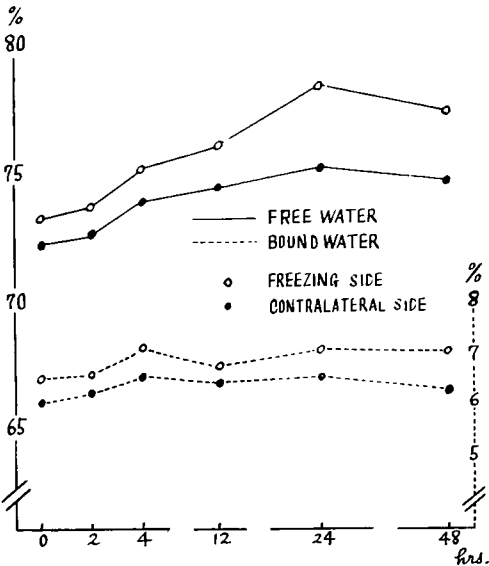


Fig. 2 Changes of Water Content in Guinea Pig Brain Cortex

において1.2%であり、灰白質に比べて水分増加は僅かである。

即ち頭部振盪後4時間目に見られる脳含水量の変化は灰白質にみられ、とくに自由水の増加が主なものであることが知られた。

第2図はモルモットを用いて凍結法により脳浮腫を作成し、経時的に大脳灰白質の脳含水量を測定した成績であるが、凍結側と非凍結側を分けて測定すると、水分量の増加は僅かに凍結側において高くみられたが、非凍結側でも水分量増加の傾向がみられた。

自由水においては4時間以後に明らかな増加傾向を示し、24時間後に最大に達した。

結合水の変化は自由水に比べて少ないが、4時間後の凍結側には明らかな増加がみられた。

2. 血漿ならびに脳脊髄液中の電解質

第3表は血漿ならびに脳脊髄液中の電解質変動についてしらべた成績である。

血漿電解質においてはNa⁺,K⁺,Cl⁻とも振盪群と対照群の間に有意な変動はみられなかった。

即ち、頭部振盪による軽度で回復可能な脳浮腫では体液にはとくに電解質変動は認められない。

Table 3
Content of Electrolytes in Plasma and Cerebrospinal Fluid (mEq/L)

	Plasma		Cerebrospinal Fluid	
	Control	Vibration	Control	Vibration
Cl	125.8±11.6	127.1± 5.5	133.0± 2.5	133.7± 6.7
Na	141.0± 6.7	141.0±11.4	147.3±28.9	151.5± 9.0
K	1.7± 0.8	5.1± 0.8	4.0± 0.9	3.9± 0.6

MEAN±S.D.

Table 4
Content of Electrolytes in Cerebral Tissue (mEq/kg dry wt.)

	Gray Matter		White Matter	
	Control	Vibration	Control	Vibration
Cl	260.0±34.6	222.5±23.5	139.5±18.1	132.4±17.3
Na	345.6±67.5	314.7±46.9	226.2±38.7	227.4±35.1
K	363.4±48.8	416.9±79.5	257.0±32.8	277.1±42.2
H ₂ O(%)	77.6±1.6	80.2±1.1	72.5±3.5	72.0±2.7

MEAN±S.D.

髄液についてもこれらの電解質は対照群との間に全く変化を認めなかった。

3. 脳組織における電解質

第4表は大腦頭頂部の灰白質、白質について電解質を測定した成績であり、灰白質においてK⁺が対照群に比べて、振盪群でやや増加する傾向を示した。

白質においては灰白質に比較すると電解質は30~40%程度に少なく、また対照群と振盪群の間には大きな変化はなかった。

脳組織水分量を乾燥重量法により測定した結果は灰白質においては振盪群では80.2±1.1%であり、対照群では77.6±1.6%であり、振盪群で2.6%の増加がみられた。

第3図はモルモットを用いた凍結法による脳浮腫時の電解質変動を経時的に測定した成績である。

含水量のばあいと同様凍結側と非凍結側では一定の平行関係を保つて変化を認めたが、これは凍結による侵襲が凍結側のみでなく、非凍結側にもおよんだ証左と考えられる。含水量の変動と対比して考えると、水分とくに自由水の増加が明らかとなる4時間以後にNa⁺、Cl⁻の増加がみられ、自由水が最高値を示す24時間前後に電解質においてもNa⁺、Cl⁻も最高値を示している。以上モルモットのばあいにも犬の頭部振盪のばあいにも軽度の脳浮腫では脳組織の電解質の著明な変動は含水量の変動とともに4時間以後、24時間前後に著明になると考えられる。

4. 細胞内外水分、電解質変動

脳浮腫時の細胞膜を介してのイオンの変化を調べる目的で、クロライドスペース、イヌリンスペースにより細胞内、外相の水分、電解質変動を検討した成績が、第5表と第6表である。クロライドスペースとは摘出脳組織に由来するCl値は全て細胞外液のClによるものと考え、組織のCl値を屠殺時の髄液中のCl濃度により除したものを細胞外水分量とし、全水分量からの差を細胞内水分量とした。また、イヌリンスペースによる細胞内水分量は、イヌリンが細胞内に入らないという仮定のもとに全水分量から摘出脳組織に由来する全イヌリン量を髄液中イヌリン量で除した値を差引いたものとして算出している。

第5表は灰白質について算出したものであり、イヌリンスペースでは全水分量、細胞内水分量とも対照群に比して振盪群では、統計学的に有意な増加を示した。クロライドスペースでも全水分量、細胞内水分量とも振盪群で増加の傾向を示した。

電解質においてはイヌリンスペースで、振盪群は対照群に比して細胞内Na⁺は69mEq/kg dry wt.、細胞内

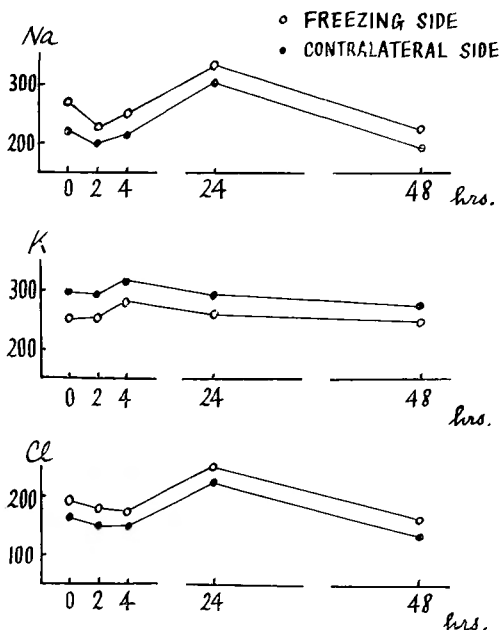


Fig. 3 Changes of Electrolytes in Guinea Pig Brain Cortex (mEq/kg dry wt.)

Table 5
On the Distribution of Electrolytes in Cerebral Gray Matter

	Chloride Assumption		Inulin Assumption	
	Control	Vibration	Control	Vibration
TOTAL H ₂ O	3.48±0.29	4.07±0.30	3.48±0.29	4.07±0.30
IC H ₂ O	1.52±0.39	2.40±0.41	2.98±0.26	3.40±0.26
IC Na	99.3±77.7	61.7±28.5	282.0±63.4	213.6±49.6
IC K	355.7±48.3	410.4±80.2	361.4±48.5	414.3±79.6
IC Cl	0	0	193.1±31.9	133.2±25.4

Mean±S.D. H₂O : ml dry wt. IC : Intracellular Electrolytes : mEq/kg dry wt.

Table 6
On the Distribution of Electrolytes in Cerebral White Matter

	Chloride Assumption		Inulin Assumption	
	Control	Vibration	Control	Vibration
TOTAL H ₂ O	2.72±0.52	2.51±0.37	2.72±0.52	2.51±0.37
IC H ₂ O	1.67±0.50	1.51±0.29	2.28±0.47	2.04±0.33
IC Na	71.2±28.5	76.6±22.8	162.7±36.3	155.8±35.7
IC K	252.9±32.5	273.2±41.8	255.4±32.8	275.3±42.1
IC Cl	0	0	82.1±18.9	69.1±15.9

Mean±S.D. H₂O : ml dry wt. IC : Intracellular Electrolytes : mEq/kg dry wt.

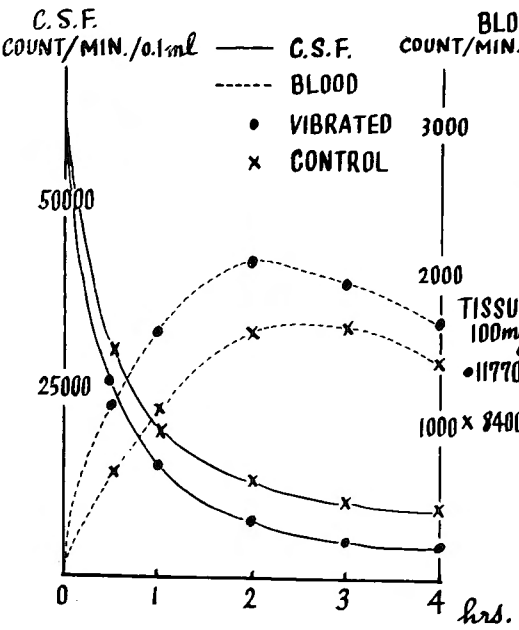


Fig. 4
 P^{32} Content of C.S.F. and Blood Following Intracisternal Injection

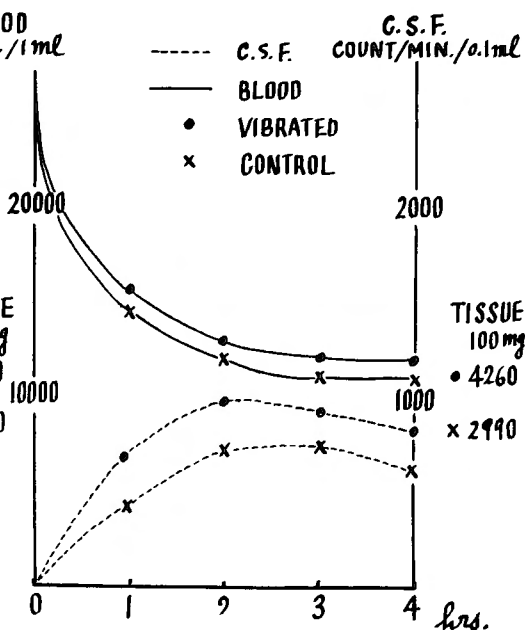


Fig. 5
 P^{32} Content of Blood and C.S.F. Following Intravenous Injection

Cl⁻は60mEq/kg dry wt.の減少がみられており、NaClとして約60mEq/kg dry wt.が細胞内から細胞外に出ていったことになる。

しかるに振盪群では細胞内水分量が有意に増加し、同時に細胞内K⁺も対照群に比し、振盪群では53mEq/kg dry wt.の増加がみられていることと、細胞内カリウムイオン濃度が両群とも変化がないことから考えると、脳浮腫により細胞膜のイオンの透過性が変化していることが考えられる。

白質については両群の間に水分量の変動は少なく、また、電解質については灰白質とほぼ同様の傾向を示したが、とくに有意な差異は認めなかった。

5. P³²を用いた脳関門の研究

第4図は髄液脳関門および、髄液血液関門の変化を調べるために、大槽内にP³²0.5mcを注入し、P³²の血中への出現を経時的に測定した成績である。血液については1mlを大腿静脈から採血し、髄液は大槽穿刺により0.1mlをプランシエット上に採液し放射能を測定した。

髄液の変動は対照群、振盪群とも一時間以内に急速に減少する。振盪群では対照群に比較すると減少傾向が強く認められた。

血液では振盪1時間後には対照群に比べて振盪群では増加がみられ、2時間前後に最高に達し、以後漸次減少傾向を示した。

また、4時間後に断頭、開頭して頭頂部の灰白質100mgについて濃硝酸0.5mlで焼灼赤外線ランプで乾燥後放射能を測定すると、振盪群では対照群にくらべて1.40倍の増加を示した。

第5図は血液脳関門の変化を追求するために大腿静脈からP³²1mcを注入し、一方大槽穿刺を行なつて経時的に血液、髄液を前回と同様に採取し放射能を測定した。

血液では対照群、振盪群ともに大きな変動は認めず、経時的に減少するが、髄液では2時間後まで上昇傾向がつよく、とくに対照群より振盪群での上昇が著しかった。

4時間後に摘出した灰白質100mgの放射能を測定し

Table 7
P³² Incorporation into P-Fractions of Dog Brain Cortex
Vibration Group

		EXP. 1	EXP. 2	EXP. 3	EXP. 4	EXP. 5	MEAN±S.D.
Tot. Acid-Sol. P ³² Count Per 1ml		51962	49872	48396	46827	45632	48538±2234
Acid-Sol. P	SP. Ac.	1418	1788	1283	1034	1263	1357±248
	rel. Sp. Ac. ×100	2.729	3.585	2.651	2.208	2.768	2.788±0.446
Nucleic Acid P	Sp. Ac.	91	81	88	97	76	88±6
	rel. Sp. Ac. (I)	0.175	0.172	0.182	0.207	0.167	0.181±0.014
	rel. Sp. Ac. (II)	6.4	4.8	6.8	9.4	6.0	6.7±1.5
Lipid P	Sp. Ac.	16	24	36	36	27	28±7.6
	rel. Sp. Ac. (I)	0.031	0.048	0.075	0.077	0.058	0.058±0.018
	rel. Sp. Ac. (II)	1.1	1.3	2.8	3.5	2.1	2.2±0.9
P. P.	Sp. Ac.	895	868	965	500	738	793±164
	rel. Sp. Ac. (I)	1.722	1.740	1.994	1.068	1.617	1.628±0.307
	rel. Sp. Ac. (II)	63.0	48.5	75.2	48.3	58.4	58.7±10.0
ROP.	Sp. Ac.	135	149	144	115	135	136±11.6
	rel. Sp. Ac. (I)	0.260	0.299	0.296	0.246	0.295	0.279±0.022
	rel. Sp. Ac. (II)	9.5	8.3	11.1	11.1	10.7	10.1±1.1
R. P.	Sp. Ac.	69	73	82	65	66	71±6
	rel. Sp. Ac. (I)	0.133	0.146	0.170	0.138	0.144	0.146±0.013
	rel. Sp. Ac. (II)	4.9	4.1	6.4	6.3	5.2	5.1±0.9

Table 8
P³² Incorporation into P-Fractions of Dog Brain Cortex
Control Group

		EXP. 1	EXP. 2	EXP. 3	EXP. 4	EXP. 5	MEAN±S.D.
Tot. Acid-Sol. P ³² Count Per 1 ml		38265	33528	29698	31261	40382	34627±4079
Acid-Sol. P	Sp. Ac.	699	605	487	542	815	630±116
	rel. Sp. Ac. ×100	1.829	1.789	1.639	1.734	2.018	1.802±0.125
Nucleic Acid P	Sp. Ac.	45	44	31	44	58	44±8.5
	rel. Sp. Ac. (I)	0.118	0.131	0.104	0.140	0.143	0.127±0.014
	rel. Sp. Ac. (II)	6.4	7.3	6.3	8.1	7.1	7.0±0.6
Lipid P	Sp. Ac.	7	5	6	8	10	7±1.7
	rel. Sp. Ac. (I)	0.018	0.015	0.020	0.025	0.025	0.021±0.004
	rel. Sp. Ac. (II)	1.0	0.8	1.2	1.4	1.2	1.1±0.2
P. P.	Sp. Ac.	383	486	410	268	475	404±78
	rel. Sp. Ac. (I)	1.001	1.449	1.381	0.857	1.176	1.173±0.223
	rel. Sp. Ac. (II)	54.7	80.9	84.2	49.4	58.2	65.5±14.3
ROP.	Sp. Ac.	76	72	94	75	90	81±8.8
	rel. Sp. Ac. (I)	0.198	0.215	0.317	0.239	0.224	0.239±0.041
	rel. Sp. Ac. (II)	10.8	12.0	19.3	13.8	11.1	13.4±3.1
R. P.	Sp. Ac.	58	37	67	65	69	59±11.7
	rel. Sp. Ac. (I)	0.151	0.110	0.226	0.207	0.171	0.173±0.041
	rel. Sp. Ac. (II)	8.3	6.1	13.8	11.9	8.5	9.7±2.7

たが、振盪群では対照群に比して1.37倍の増加を示した。

以上の成績から脳浮腫時には血液脳関門の透過性の亢進もみられるものと考えられる。

6. P³²を用いた脳組織での磷酸代謝の研究

第7表は振盪群、第8表は対照群について脳浮腫時の脳髓磷酸代謝について検討するため、酸溶性磷分画、核酸分画、脂質分画、PP分画、ROP分画、およびRP分画につき検討を加えた。

それぞれの分画について Specific Activity を求め、さらに酸溶性分画のMg-treatmentを行なう前の total acid soluble P³²のカウント数で除して relative Specific Activity (I) を求めた。対照群と比べて振盪群では relative Specific Activity において酸溶性分画、核酸分画、脂質分画、P.P分画いずれも高値を示した。しかし核酸、脂質、P.P分画のP³² incorporationが酸溶性磷とくにATPを介して行なわれているとするならば、振盪時の影響を比較検討する際には酸溶性磷分画の比放射能と各分画のrelative Specific Activityとの比によ

つて求めた方が妥当であると考えられるので、各分画のSpecific Activityを酸溶性分画のSpecific Activityで除して relative Specific Activity (II) をさらに算出した。

このばあいには磷脂質分画を除いて振盪群と対照群で比較すると殆ど等しいか、振盪群でやや減少の傾向を示した。しかし、relative Specific Activity (I) および relative Specific Activity (II) において、磷脂質分画のみが対照群の約2倍の値を示した。

7. 大脳皮質遊離アミノ酸の変動

第9表は対照群、振盪群について脳内遊離アミノ酸を測定した成績である。

対照群 (I) は麻酔直後のものであり、対照群 (II) は Na-Pentobarbital の影響をみるために振盪せず、4時間後開頭して脳組織を摘出して比色、定量したものである。

GABAについては対照群 (I) は3.12±0.57μmoles/g、対照群 (II) は4.75±0.85μmoles/gと52%の増加を示し、Na-Pentobarbital 麻酔により上昇した。また、振盪群では2.62±0.92μmoles/gと対照群 (I) 、

Table 9
Free Amino Acid Contents in Brain Cortex ($\mu\text{moles/g}$)

	Control (I)	Control (II)	Vibration
GABA	3.12 $\pm$ 0.57	4.75 $\pm$ 0.85	2.62 $\pm$ 0.90
Aspartic Acid	4.20 $\pm$ 0.33	6.77 $\pm$ 0.98	4.04 $\pm$ 0.95
Glutamic Acid	9.43 $\pm$ 0.79	7.88 $\pm$ 0.70	10.58 $\pm$ 0.30
Alanine + Glutamine	6.16 $\pm$ 0.78	8.40 $\pm$ 0.76	5.23 $\pm$ 0.36

Mean $\pm$ S.D.

(II) に比較して明らかに低値を示している。対照群 (II) と比べると81%の減少があり、頭部振盪により明らかに低下するのである。

アスパラギン酸は対照群 (I) で4.20 $\pm$ 0.33 $\mu\text{moles/g}$ 、対照群 (II) で6.77 $\pm$ 0.98 $\mu\text{moles/g}$ 、で軽度の増加を認めるが、振盪群では4.04 $\pm$ 0.95 $\mu\text{moles/g}$ であり、対照群 (II) に比し明らかに減少している。

グルタミン酸は対照群 (I) が9.43 $\pm$ 0.79 $\mu\text{moles/g}$ に対して、対照群 (II) は7.88 $\pm$ 0.70 $\mu\text{moles/g}$ であり、振盪群では10.58 $\pm$ 0.30 $\mu\text{moles/g}$ を示し、対照群 (II) と比較して実験群では36%の増加を示した。

なお、アラニン+グルタミンについては対照群 (I)、6.16 $\pm$ 0.78 $\mu\text{moles/g}$ 、対照群 (II)、8.40 $\pm$ 0.76 $\mu\text{moles/g}$ 、振盪群では5.23 $\pm$ 0.36 $\mu\text{moles/g}$ であり、麻酔により増加することが考えられる。

モルモットを用いてクロールエチル硬膜外 spray による凍結法により実験的脳浮腫を作成させ、その際の凍結側と非凍結側の脳皮質遊離アミノ酸を経時的に測定した成績が第6図である。

凍結側、非凍結側では水分、電解質の変動においても同様な結果であつたが、アミノ酸のばあいにも凍結側、非凍結側とも平行関係を保つて変化を示した。

GABA については比較的早期には時間の経過と共に減少し、24時間後に最低値を示した。

アスパラギン酸については経時的変動に一定の傾向はみられなかつた。

グルタミン酸は4時間以後に増加の傾向がみられ、24時間後に最高値を示した。

以上経時的変動について測定した成績を示したが、モルモットの凍結法による脳浮腫時には浮腫の程度が最高に達する24時間前後に遊離アミノ酸とくにGABAの減少とグルタミン酸の増加が認められた。

考 按

脳浮腫に関連した実験的研究^{3) 12) 24) 25) 42) 43) 44) 59) 66)}は非常に多く、Rieger (1885)⁴⁷⁾は脳容積が増加しているために頭蓋内圧の上昇した状態を脳浮腫と命名した。また、Reichardt (1905)⁴⁵⁾により脳容積と頭蓋内腔容積との関係、脳比重および肉眼的、組織学的検索の結果、細胞外に液体の貯溜せる状態を狭義の脳浮腫、細胞内に液体の貯溜せる状態を脳腫脹と定義した。

その後も他組織、他臓器の浮腫との類推から脳浮腫時に水分増加を伴うことは、Aptelbach¹⁾ (1922), Selbach⁵²⁾ (1940), Stewart-Wallace⁵³⁾ (1939), Riebeling⁴⁶⁾ (1939), Strobel⁵⁵⁾ (1938), 安保²⁾, 小谷²⁸⁾らにより立証されたが、ことに安保は脳圧亢進症例を塩化コバルト法による含水量の測定から、脳浮腫例においては脳含水量のうち自由水の増加を特長とすると述べており、一方脳腫脹では結合水の著しい増加および自由

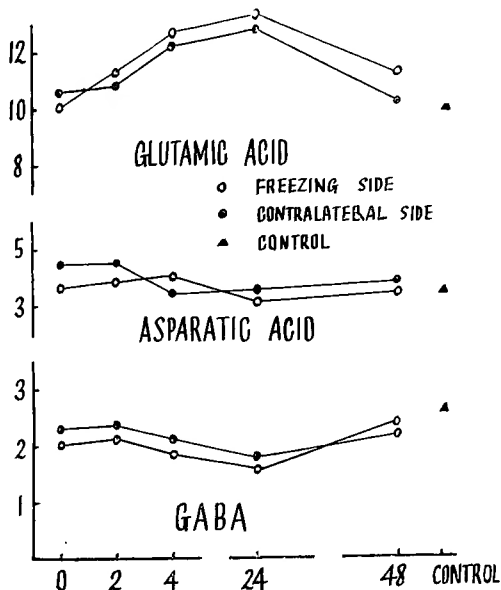


Fig. 6 Free Amino Acid Contents in Guinea Pig Brain Cortex ($\mu\text{moles/g}$)

水、全水の減少と乾燥物質の著明な増加がみられ、また、移行型では自由水に変動なく、結合水は軽度増加することを明らかにしている。

本邦においては脳浮腫の判定に簡便である塩化コバルト法が用いられ、種々の条件下で測定された成績がある²⁾²⁸⁾³⁹⁾⁴⁰⁾⁴¹⁾。

この塩化コバルト法は結晶性塩化コバルトでは赤色を呈しているのが、結晶水を失った無水塩化コバルトは青色となり、組織に自由水がある間は塩化コバルトに結晶水を供給できるから赤色を呈しているが、自由水がなくなると組織は青変する理を応用したものである。

本実験でも頭部振盪時の脳含水量測定の成績から、灰白質で自由水の増加がみられており、結合水には殆ど変化がなく水分増加は自由水であることから、安保²⁾、Reichardt⁴⁵⁾、Zülch⁶⁷⁾(1959)の分類から考えれば脳浮腫型ということができる。

またモルモットを用いて硬膜外凍結法においても灰白質において4時間以後、凍結側、非凍結側の両方に自由水の増加傾向がみられ、頭部振盪時と同様、脳浮腫型を呈したと考えられる。

Jaburek²⁶⁾(1932)、Scheinker³⁰⁾³¹⁾(1938, 1941)、Greenfield¹⁸⁾(1939)は組織学的見地から脳浮腫の変化が主として白質におこつたことを明らかにしているが、本実験における含水量の測定成績からでは白質よりも灰白質に水分増加がみられた。

また、含水量は電解質測定時にも乾燥重量法により白質および灰白質の全水分量を測定したが、この際にも振盪群では対照群に比して灰白質では有意の増加を示したが、白質については増加がみられなかった。

さて、近年電子顕微鏡の研究の結果、浮腫脳の形態学的研究が、Farquhar & Hartmann¹³⁾(1957)、Dempsey & Luse⁹⁾(1958)、Dempsey & Wislocki¹⁰⁾(1958)、Maynard³¹⁾(1957)、Gerschenfeld¹⁶⁾ et al. (1959)、De Robertis¹¹⁾(1962)などにより行なわれ、脳組織では細胞外腔(extracellular space)乃至は細胞間腔(intracellular space)、血管周囲腔(Perivascular space)は殆ど存在せず、毛細血管の周囲は神経膠細胞およびその原形質突起に密に囲繞されているという。

実験的浮腫脳で検索しても細胞外腔、細胞間腔や血管周囲腔は存在せず、ここに液体の貯溜している所見は全く見られず、その代り神経膠細胞の原形質およびその突起の著しい膨化が認められるという²⁵⁾。

即ち、電子顕微鏡的考察によれば、脳浮腫時には細

胞内液体貯溜が主体をなすことが判り、Reichardt⁴⁵⁾および Zülch⁶⁷⁾などの分類した狭義の脳浮腫と脳腫脹という二つを区別する意義が認められなくなつた。

しかし、電子顕微鏡的には細胞外腔の存在は否定されたが、本実験においてもchloride spaceより測定すると40%、inulin spaceからも2%前後の細胞外腔が存在することが知られ、Manery³³⁾(1952)もchloride spaceで測定した結果30%前後の細胞外腔が存在したことを報告している。chloride spaceではCl⁻が細胞内にないと仮定するため大きい値を示すことは当然であるが、Morrison³⁶⁾(1959)は犬とラットでinulinを用いて、Walser⁶²⁾(1954)、Woodbury⁶⁴⁾(1958)、Barlow⁴⁾(1961)らは猫やラットでアイソトープS³⁵を用いて算出し、3~4%の細胞外腔を認めている。また皮質の電気的インピーダンスの測定でも間質液は27~35%であるといわれている⁶⁰⁾。

以上、電子顕微鏡による形態学的考察と生化学的考察の間にgapが生じたが、少なくとも塩化コバルト法にて自由水が存在すること。また、クロライド、イヌリンスペースから考えても、細胞外腔の存在が強く考えられるが、目下のところグリア細胞膜の透過性が極めて大きく、イオン分布から考えると細胞外相はグリア細胞のもつ特異な性質から説明されるようになった。

次に脳組織では水分、電解質の出入と関連してWalter⁶³⁾(1933)らにより提唱された血液脳関門(blood-brain barrier)の存在を無視することはできない。

血液脳関門の成立機構は単純なものでなく、電子顕微鏡による形態学的研究では、血管内皮基底膜、および神経膠細胞の突起の選択的透過性などの総合作用として理解されている。

実験的脳損傷により損傷部の血液脳関門が破壊されるということは初期の生体染色色素による実験³²⁾でも知られている。

この透過性の変化は単に大脳皮質を露出することでもおこり¹⁹⁾⁴⁴⁾、また、過酸化水素を脳表に接触させたり¹⁷⁾、硬膜の凝固⁶⁾³¹⁾³²⁾、脳実質の刺傷圧迫などによつても³⁾認められるのである。

本実験においてP³²をtracerとして用いた関門の研究で、血中に投与されたP³²の髄液中の放射能が高いこと、ならびに脳組織へのP³² incorporationが振盪時に増加したという成績は、少なくとも振盪による脳浮腫時に脳関門の透過性の亢進を考えさせる。

さらに髄液中に投与したP³²の血中への出現ならば

に脳組織への P^{32} incorporation をしらべると、振盪時に P^{32} の血中への出現および脳組織への incorporation が増強していることから、髄液脳関門の P^{32} に対する透過性の亢進も考えられる。

水分、電解質についてイヌリンスペースから算出した成績では振盪群において灰白質の細胞内水分量は有意の増加を示しているにも拘らず、NaCl として 60m Eq/kg dry. wt. が細胞内から細胞外に出て、反対に細胞内カリウムは増加するのであるが、細胞内カリウムイオン濃度は対照群と振盪群で全く変化がないことが知られた。

この事実から脳浮腫時細胞膜の透過性の変化により、膜内外のイオン分布が変化したと考えられ、陰イオンとしてはグルタミン酸の増加など意味あるものと考えられよう。

また、脳浮腫時に血液中のアルブミンが脳組織内に侵入することや⁴⁸⁾、また清田²⁷⁾は蛋白泳動法により可溶性蛋白の移動を調べ、可溶性蛋白の変化をとみなわない自由水増加を示す単純浮腫と血清アルブミンの組織内移行を示す型および、グロブリンの異常と組織固有蛋白変性を示す複雑浮腫を区別していることは脳浮腫時に細胞の透過性が変化することを示唆する。

さて、脳浮腫時の早期における脳髄の代謝過程を追求めることは非常に重要なことであり、とくに生体内でのエネルギー転換系として、磷酸代謝について検討することは意義のあることである。

一般に Cerebral activity の維持には高エネルギー磷酸結合の存在が要求されるのであるが、脳損傷あるいはそれに伴う脳浮腫時には脳酸素消費量の低下、脳循環血流量の減少が認められ²³⁾²⁹⁾³⁸⁾⁵⁷⁾、低酸素状態が続く、脳のエネルギー代謝過程に障害をあたえることが考えられる。即ち、脳内の ATP、クレアチン磷酸の減少、乳酸、無機磷の増加が認められている³⁵⁾⁵⁴⁾⁶⁵⁾。

そこで P^{32} を用い、脳内の磷酸代謝の検索を行なった。脳浮腫時の磷酸代謝の実験においては、振盪終了後大槽内に P^{32} 2 mc を注入し、4 時間後の脳組織について、Friedkin-Lehninger 法に準じて各磷酸化合物に分画し、各々の分画について磷量を測定すると共に、 P^{32} の incorporation を測定し Specific Activity を求めた。

さらに total acid soluble P^{32} のカウントから各分画の relative Specific Activity を求めると脳浮腫時に高値を示し、この成績からは脳浮腫の早期には、磷酸代謝の亢進も考えられるが、一方脳浮腫時には脳関門の機能変化のあることも考えられるので、 P^{32} の脳実質内へ

の透過が増加したという可能性を否定することはできない。

また、核酸磷、脂質磷、PP 分画への P^{32} incorporation が酸溶性磷とくに ATP を介して行なわれると考えるならば、頭部振盪による脳浮腫という非生理的条件下では、その際の変動を比較検討するばあいには、むしろ酸溶性磷分画の relative Specific Activity を各分画の relative Specific Activity との比において比較検討することも必要であると考えられるので、この観点から対照群と振盪群について検討すると、磷脂質分画以外の分画では、対照群と殆ど差異がなかった。

このことは頭部振盪という極めて軽度な、しかも回復可能な脳浮腫では磷酸代謝系にそれほど大きな変動がみられないことを示すものともいえる。

しかし、この酸溶性磷分画の relative Specific Activity で求めたばあいでも、また、total acid soluble P^{32} で求めた relative Specific Activity のばあいでも、磷脂質分画においては振盪群は対照群の約 2 倍に増加している。

荒木ら²²⁾は硬膜外ゴム球圧迫法による猫を用いた実験で 24 時間後に白質およびわずかながら灰白質においても磷脂質の減少を認めたことを報告しており、この時期は著明な意識障害や筋強直などの認められる時期と一致するという。

本実験では振盪終了 4 時間後動物は種々の刺激に反応しうることから考えても、このばあいには脳損傷を伴わない非常に軽度な、しかも回復可能な脳浮腫である点は注目されねばならない。

脳組織は磷脂質量が極めて多く、とくに細胞膜の構成の主たるものといわれている点、および、脳浮腫時の血液脳関門の透過性亢進の事実など考え合わせ、磷脂質の代謝の問題は今後に残された課題である。

次に脳浮腫時のアミノ酸代謝について検討を加えるため、振盪終了 4 時間後の大脳皮質遊離アミノ酸を測定したが、GABA については麻酔直後あるいは麻酔 4 時間後の対照群に比して振盪群では有意な減少を示した。

グルタミン酸は麻酔後 4 時間では軽度の減少を示し、振盪群では増加を認めた。

グルタミン + アラニン量の変化については本群では Paperchromatography を用いて定量しているため、いずれのアミノ酸について変化があるかを論じることはいえない。

Berl⁵⁾(1958)らの猫を用いたクロールエチルによる痙攣をおこさせる方法では、グルタミン酸が減少する

ことを報告し、横³⁷らも家兎を用いて空気銃の空撃により、外傷脳を作成した際のGABAおよびグルタミン酸の減少傾向を認めている。

里吉ら⁵⁰は脳浮腫時あらかじめ血中にGABAを500 mg/kg投与すれば、GABAの減少が阻止されたと報告している。いずれにしても脳内アミノ酸の変動は麻酔条件により強い影響をうけることが明らかで、この点は十分注意されねばならないが、頭部振盪による脳浮腫や軽度の凍結脳ではGABAが減少し、グルタミン酸が増加するのであつて、これは脳の細胞膜の透過性の変化に起因すると考えられる。

以上の諸成績から著者の用いた実験条件は回復可能な軽度の脳浮腫の条件であると考えられ、器質的な変化を示す以前の生化学的な諸変化をとらえたものと考えられる。

結 語

犬およびモルモットを用い軽度の実験的脳浮腫を作成し、脳内電解質代謝、磷酸代謝およびアミノ酸量の変動につき検討を加えた。

1. 犬の頭部を一定条件下に強制振盪して脳脊髄圧の上昇を認めた後、脳内電解質分布を検索したところ、水分量の増加を認めた。

これは塩化コバルト法によれば自由水の増加として、また、イヌリンスペースやクロライドスペースから算出すれば、細胞内水分の増加としてとらえられた。

モルモットの凍結脳による実験でも全く同様のことが認められ、水分量の変化は24時間後に最大となる。

2. 犬およびモルモットの実験的脳浮腫に際して、脳内イオン分布を Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- につき検索し、イヌリンスペースから細胞内相の分布を算出してみると、 K^+ が増加し、 Na^+ 、 Cl^- は減少を認めた。しかし、細胞内カリウムイオン濃度については、振盪群と対照群で差異が認められなかつた。脳脊髄液および血漿中のイオン組成についても分析したが、全く有差の差異を認めなかつた。

3. 実験的脳浮腫に際し、血液髄液関門、髄液脳関門および髄液血液関門の透過性が亢進していることを P^{32} を用いて確かめた。

4. P^{32} を犬の大槽内に注射し、振盪群と対照群につき、脳の酸溶性磷、核酸磷、脂質磷および蛋白磷の代謝回転を測定したが、酸溶性磷、核酸磷、蛋白磷に

ついては有意の差異を認めなかつた。

ただ脂質磷分画については振盪群で常にその代謝回転の亢進がみとめられた。

5. 脳内遊離アミノ酸はNa-Pentobarbital麻酔により変化をうける。即ちGABA、アスパラギン酸は増加し、グルタミン酸は減少する。頭部振盪や脳凍結後のアミノ酸含量の変化は、同様麻酔を施した対照群に比して、GABA、アスパラギン酸の減少とグルタミン酸の増加が認められた。

本論文の要旨は第63回日本外科学会総会ならびに第22回日本脳神経外科学会において発表した。稿を終るに臨み、御指導を賜りました恩師栗津三郎教授ならびに教室員の皆様に深謝の意を捧げます。また生化学的な面について終始、御指導と御協力を惜しまれなかつた生理学教室塚田裕三教授、平野修助教授ならびに教室員の方々に厚く御礼を申しあげます。

文 献

- 1) Aptelbach, C. W.: Studies in Traumatic Fractures of the Cranial Bones: I. Edema of the Brain; II. Bruises of the Brain. Arch. Surg., 4: 434, 1922.
- 2) 安保 寿: 脳腫脹と脳水腫, 日本医事新報, 1363, 1479, 昭28.
- 3) Bakay, L.: Studies on blood-brain barrier with radioactive phosphorus. V. Effect of cerebral injuries and infarction on the barrier. Arch. Neurol. & Psychiat., 73: 2, 1955.
- 4) Barlow, C. F., Domek, N. S., Goldberg, M. A. & Roth, L. J.: Extracellular Brain Space Measured by S^{35} Sulfate. A. M. A. Arch. Neurol., 5: 102, 1961.
- 5) Berl, S., Purura, D. P., Gonzalez-Montegudo, O., and Waelsch, H.: Effects of injected amino acids on metabolic changes in epileptogenic and non-epileptogenic lesions of cerebral cortex. In Roberts, E., Ed. Inhibition in the Nervous System and γ -Aminobutyric Acid. London, Pergamon, in Press.
- 6) Broman, T., Radner, S., and Svanberg, L.: The duration of experimental disturbances in the cerebrovascular permeability due to circumscribed gross damage of the brain. Acta psychiat. et neurol., 24: 167, 1949.

- 7) Caudill, C. M., Smith, G. A., French, L. A., Peyton, W. T., and Moore, G. E. : Experimental studies of the effect of coagulating currents upon the brain when applied to the intact dura and directly on the cortex. *J. Neurosurg.*, **8** : 423, 1951.
- 8) Clasen, R. A. : The production by liquid nitrogen of acute closed cerebral lesions. *Surg. Gyn. Obst.*, **96** : 605, 1958.
- 9) Dempsey, E. W. & Luse S. A. : Fine structure of the neuropile in relation to neuroglial cells. Windle, W. F. ed. *Biology of Neuroglia* Springfield, Ill., Charles C. Thomas, 1958, pp. 99.
- 10) Dempsey, E. W. & Wislocki, G. B. : The use of silver nitrate as a vital stain, and its distribution in several mammalian tissues as studied with the electron microscope. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1** : 111, 1958.
- 11) De Robertis, E. : Some old and new concepts of Brain Structure. *World Neurology*, **3**, 98, 1962.
- 12) Eugen Stern, W. : Studies in experimental brain swelling and brain compression. *J. Neurosurg.*, **16** : 676, 1959.
- 13) Farquhar, M. G. & Hartmann, J. F. : Neuroglial structure and relationship as revealed by electron microscopy. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, **16** : 18, 1957.
- 14) Friedkin, M. and Lehninger, A. L. : Oxidation-coupled incorporation of inorganic radiophosphate into phospholipide and nucleic acid in a cell-free system. *J. Biol. Chem.* **177** : 775, 1949.
- 15) Findlay, M., K. P. Strickland, & R. J. Rossiter. : Incorporation of radioactive phosphate into nucleotide protein-bound phosphorus fractions of respiring cat brain slices. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, **32** : 504, 1954.
- 16) Gerschenfeld, H. M., Wald, F., Zadunaisky, J. A., & de Robertis, E. D. P. : Function of astroglia in the water-ion metabolism of the central nervous system-An electron microscopic study. *Neurology*, **9** : 412, 1959.
- 17) Givré, A., and Rexed, B. : The action of hydrogen peroxide on the undamaged brain surface. *Acta psychiat. et neurol.*, **23** : 247, 1948.
- 18) Greenfield J. G. : The Histology of Cerebral Oedema associated with Intracranial Tumors. *Brain*, **62** : 129, 1939.
- 19) Grenell, R. G., and McCawley, E. D. Central nervous system resistance. III. The effect of adrenocortical substance on the central nervous system. *J. Neurosurg.*, **4** : 508, 1947.
- 20) 萩原 徹他 : 実験的脳浮腫作製法に関する一考察, 京府医大誌, **69** : 803, 1961.
- 21) Higashi, A. & Peters, L. : A rapid calorimetric method for the determination of inulin in plasma and urine. *J. lab. Clin. med.*, **35**, 475, 1950.
- 22) 早石 修他 : 脳外傷および脳浮腫の生化学, 日新医学, **48** : 519, 昭36.
- 23) 飯塚 積他 : 脳外傷における脳循環障碍の検討, 脳と神経, **9** : 669, 昭32.
- 24) Ishii, S. et al. : Studies on cerebral swelling. *J. Neurosurg.* **16** : 152, 1959.
- 25) 石井昌三 : 血液脳関門について, 脳と神経, **14** : 357, 昭32.
- 26) Jaburek: Hirnödeme und Hirnschwellung bei Hirngeschwülsten. *Arch. Psychiatr.* **104** : 518, 1932.
- 27) 清田一民 : 脳組織の親水性と蛋白複合体, 第1報 正常脳, 第2報 親水性異常脳, 精神神経誌, **61** : 1877, 1959.
- 28) 小谷武彦 : 脳腫脹及脳水腫に於ける所謂結合水の測定と組織学的変化の比較研究, 北海道医学雑誌, **1**. 1, 昭23.
- 29) Lindquist, J. L., & Leroy, G. V. : Studies of cerebral oxygen consumption following experimental head injury. *Surg. Gyne. Obst.*, **75** : 28, 1942.
- 30) Luse, S. A. & Harris, B. . Electron microscopy of the brain in experimental edema, *J. Neurosurg.* **17** : 439, 1960.
- 31) MacCurdy, J. T., and Evans, H. M. : Experimentelle Läsionen des Central-nervensystems, untersucht mit Hilfe der vitalen Färbung. Berlin. *Klin. Wehnschr.*, **49** : 1695, 1912.
- 32) Macklin, C. A., and Macklin, M. T. : A study of brain repair in the rat by the use of trypan blue, with special references to the vital staining of the macrophages. *Arch. Neurol. Psychiat.*, **3** : 353, 1920.
- 33) Manery, J. : Inorganic Metabolism of Brain, in the Biology of Mental Health and Disease. New York, Paul B. Hoeber Inc., 1952.
- 34) Maynard, E. A., Schultz, R. L. & Pease, D. C. . Electron microscopy of the vascular bed of rat cerebral cortex. *Amer. J. Anat.*, **100** : 409, 1957.
- 35) McIlwain, H. : Biochemistry and the central nervous system. Churchill, London, p. 28, 1955.
- 36) Morrison, A. B. : The distribution of intravenously injected inulin in the fluids of the nervous system of the dog and rat. *J. Clin. Invest.*, **38** : 1760, 1959.
- 37) 横 建他 : 脳外傷による脳遊離アミノ酸の消長, 脳と神経, **15** : 149, 昭38.
- 38) 荻田欣二 : 頭部外傷時における脳循環および代

- 謝に関する実験的研究, 日大医誌, **17**: 2273, 昭33.
- 39) 西本 詮: 脳浮腫の研究, 脳と神経, **14**: 363, 昭32.
- 40) 中山幸雄: 実験的脳浮腫における脳組織含水量に関する研究, 京都府立医大雑誌, **68**: 1667, 昭35.
- 41) 大藤 弘: 諸種脳腫脹における脳皮質含水量ならびに無機物質含有量及び病理組織学的変化に関する実験的研究, 脳と神経, **9**: 662, 昭32.
- 42) Obrador S. and Pi-Suner J.: Experimental Swelling of the Brain, Arch. Neurolog. & Psychiatr. **49**: 826, 1943.
- 43) Prados M., Strower B. and Feindel W. H.: Studies on Cerebral Edema, I. Reaction of Brain to Air Exposure. Pathologic Changes, Arch. Neurolog. Psychiatr., **54**: 163, 1945.
- 44) Prados, M. et al.: Studies on cerebral edema. Arch. Neurol. Psychiatr., **54**: 163, 1945.
- 45) Reichardt, M.: Zur Entstehung des Hirndruckes. Deutsen. Z. Nervenheilk., **28**: 306, 1905.
- 46) Riebeling C.: Eine Chemische Untersuchung der Hirnschwellung, Z. Neurolog. **166**: 149, 1939.
- 47) Rieger: Eine exakte Methode d. Craniographie, Japa. Fischer. 1885.
- 48) Rubinstein, L. J., Klatzo, I. & Miquel, J.: Histochemical observations on oxidative enzyme activity of glial cells in a local brain injury. J. Neuropath. exp. Neurol., **21**: 116, 1962.
- 49) Schales, O. & Schales, S. S.: A simple and accurate method for the determination of chloride in biological fluids. J. Biol. Chem. **140**: 879, 1941.
- 50) Scheinker I.: Zur Histopathologie des Hirnödems und der Hirnschwellung bei Tumoren des Gehirns, Dtsch. Z. Nervenheilk. **147**: 137, 1938.
- 51) Scheinker I.: Cerebral Swelling and Edema Associated with Cerebral Trauma, A Histologic and Histogenetic Study, Arch. Neurolog. and Psychiatr. **45**: 117, 1941.
- 52) Selbach H.: Physical-Chemische Untersuchungen zur Hirnvolumvermehrung (Hirnschwellung und Hirnödem), Arch. Psychiatr., **112**: 409, 1940.
- 53) Stewart- Wallace: A Biochemical Study of Cerebral Tissue and of the Changes in Cerebral Oedema, Brain, **62**: 426, 1939.
- 54) Stone, W. E.: Acute chemical changes associated with pathological physiology of the brain. In Neurochemistry, edited by Elliot, K. A. C., Page, I. H., & Quastel, J. H. C. C. Thomas, Springfield, P. **489**: 1955.
- 55) Strobel, Ueber den Trockensubstanzgehalt verschiedener Hirnteile, Z. Neurolog. **166**: 161, 1938.
- 56) 里吉栄二郎他: 脳浮腫に関する研究, 脳と神経, **13**: 165, 昭36
- 57) 立花真造: 頭部外傷時における脳循環および代謝に関する臨床的研究, 日大医誌, **18**: 3270, 昭34.
- 58) 塚田裕三他: ペーパークロマトグラフィーによる脳組織遊離アミノ酸の分離定量法について, 生化学, **33**: 51, 昭36.
- 59) 都留美都雄: 実験的脳浮腫に関する研究, 北海道医学, **32**: 5, 昭32.
- 60) Van Harreveld, A. & Schade, J. P. Abstr. Intern. Meeting Neurobiol. Amsterdam, P32, 1959.
- 61) 吉川春寿, 高橋泰常: 磷酸代謝法, I, P11, 28, 広川書店, 東京, 昭33.
- 62) Walser, M., Seldin, D. & Grollman, A.: Radiosulfate space of muscle, Amer. J. Physiol., **176**: 322, 1954.
- 63) Walter, F. K.: Die allgemeinen Grundlagen des Stoffaustausches zwischen dem Zentralnervensystem und dem übrigen Körper. Arch. Psychiatr., **101**: 195, 1933.
- 64) Woodbury, D. M.: in Biology of Neuroglia, Windle, W. F. ed. Springfield Ill., C. C. Thomas, 1958, Chap. 7.
- 65) Weil-Malherbe, H.: Oxidation mechanism. In Neurochemistry, edited by K. A. C. Elliot, I. H. Page, J. H. Quastel. C. C. Thomas, Springfield, P. 107, 1955.
- 66) Zülch, K. J.: Störungen des intrakraniellen Druckes. Olivekrona, H. & Tönnis, W. ed. Handbuch der Neurochirurgie. Heidelberg. Springer-Verlag. 1959.
- 67) Zülch, K. J.: Hirnödem und Hirnschwellung. Virchows Arch. Path. Anat., **310**: 1, 1943.