

# 脳神経細胞の機能とリボ核酸との関係に就いて

## 第 1 編

### 海猿の脳に対するリボ核酸分解酵素の生物学的作用に就いて

岡山大学医学部病理学教室 (指導: 妹尾左丸教授)

浜 田 日 佐 夫

〔昭和 39 年 12 月 12 日受稿〕

#### 緒 言

現在、尚神経細胞の高次の機能が、どの様な機序で営まれるかは、全く不明のまま残されている問題である。神経細胞は周知の如くりボ核酸 (以後 RNA と略す) を多量に含んでおり、この事実は脳神経細胞の機能に RNA が重大な役割を演じているであろう事を想定させ、Hyden その他に依り研究が進められて来た<sup>1)2)3)</sup>。生体の各組織に於ける RNA の主な作用が蛋白合成である事は、即ち一般に認められている<sup>4)5)</sup>。したがって、RNA は分裂と生長を繰り返す幼若細胞又は分泌細胞の様な蛋白合成を必要と細胞に特に多量存在している<sup>6)7)</sup>。しかし、脳組織に於いては細胞の生長、分裂はなく、又特に蛋白分泌が盛であるというわけではないのであるから、神経細胞に多量の RNA が存在する事は脳の複雑な機能と密接に関係しているものと考えられる。そこで著者はリボ核酸分解酵素 (以後 RNase と略す) を動物の脳に作用させ、脳組織の RNA を分解し、をこれを減少或は消失せしめて、その動物の状態観察し、併せて組織学的観察を行う事に依つて、脳に於ける RNA とその機能との関係の解明を試みた。動物の脳に RNase を直接作用させる実験に就いては、John, Wenzel and Tshirgi<sup>10)</sup> が猫の側脳室に RNase を注入し、脳の機能に RNA の関与する事を示唆する未報告文献があるに過ぎない。著者は先づ最初に、脳内に入った RNase が果して脳神経細胞の RNA を減少させる様に働くかどうかを調べる目的で RNase を海猿の脳脊髄液内、及び脳実質内に注入して、その後の動物の状態と神経細胞の RNA の減少を組織学的に検索した。

#### 実験材料及び方法

材料: 動物は約 200g—300g の健康なる海猿 50 匹を使用した。RNase は Wothington Biochemical

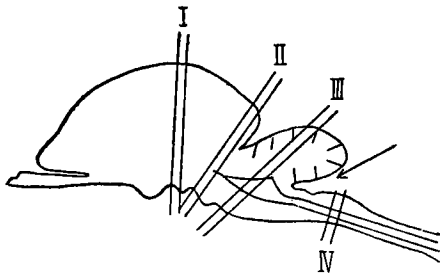
Corporation U. S. A. 製 (crystallized from alcohol) を使用した。

Hanks's solution は pH 7.0—7.4 のものをザイツ氏濾過器にて濾過除菌したもの (以後 Hanks's solution と書く) を使用した。

方法: RNase を海猿の脳脊髄液中に注入するのは次の様に行なつた。即ち、内径 1/3 mm の注射針の元口を取り、針部のみとし、その根本に外径 1.2 mm、長さ 3cm—5cm のビニールチューブをアラルダイトでとりつけ、この針で海猿の大槽穿刺を行う。大槽穿刺は海猿の後頭部の骨起突のすぐ後部の最も陥凹する点を刺入点とし、針を下顎の先端の方向に、除々に進めると、脳硬膜を破るかすかな抵抗と共に、透明なる脳脊髄液が針を通つてビニールチューブに湧出して来る。液がビニールチューブを充した時、外径約 1.0 mm、のビニールチューブにピッタリ合う針を RNase Hanks's solution の入つたマントー注射器にとりつけ、針をビニールチューブに挿入して RNase の Hanks 溶液を海猿の脳脊髄液中に注入する。

この大槽穿刺に依つて、最初の動物群に海猿一匹当たり 0.1% RNase Hanks's solution 0.2cc を脳脊髄液中に注入した。第 2 群では 0.2% RNase Hanks's solution 0.2cc を同様の方法にて脳脊髄液中に注入した。かくして、第 3 群には 0.5% RNase 溶液 0.2cc を、第 4 群には 1% RNase 溶液 0.2cc を同様の方法にて注入した。各群の動物は 10 匹づつとし、1 回に 5 匹づつの実験を行なつた。海猿は RNase Hanks's solution の注入直後より運動状態その他を観察すると共に、24 時間後に頸動脈を切断、脳を傷つけない様に取り出し、挿図 1 の様な切断 I, II, III, IV を加えて肉眼的所見を観察した後に各切片を、アルコール固定後、ニッスル染色にて神経細胞の RNA 染色状態を観察した。

図1 海猿脳模型図とその切断を示す。



- I 灰白結節と乳頭体の部分にまたがる前額断面  
 II 四丘体と脳橋を通る切断  
 III 小脳と第四脳室底を通る切断  
 IV 延髄  
 矢印 RNase 注入場所

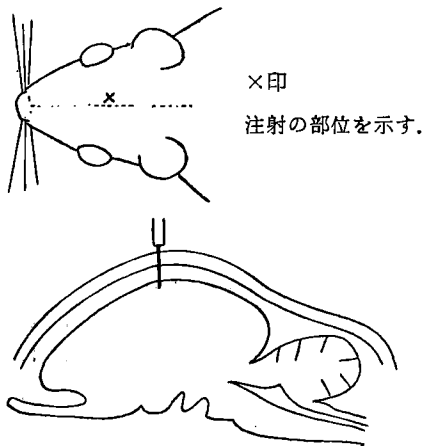
一方対照実験としては RNase の溶媒に用いた Hanks's solution 0.2cc 宛 5 匹の動物に同じ方法にて脳脊髄液中に注入して、その後の状態観察及び組織学的観察を行なった。

更に局所作用を見る為に、2 段針を用いて挿図 2 の様に海猿の頭蓋骨を貫通して、脳実質に 0.5% 及び 1% RNase Hanks's solution の注入を行い、その後の状態及び組織学的観察を行なった。又これにも対照実験として Hanks's solution 0.2cc を RNase 溶液の場合と同じ方法にて脳実質内に注入し、同様の観察を行なった。

### 結 果

0.1% RNase を脳脊髄液中に注入したものは、対照として Hanks's solution を注入したものに比

図 2



2 段針の刺入状態を示す。

べて状態の変化は認められない。即ち、動物は注射後しばらく静止状態を続けるが、間もなく回復し 24 時間後に於いては注射前の正常と変らない状態を示す。組織学的にも神経細胞に著変を認めなかつた。

0.2% RNase を注入したものに於いても 0.1% の濃度のものを注入した場合と同様であつた。

しかし、0.5% RNase を注入したものに於いては症候的には著変を見ないが実験例 5 匹中 1 匹に、組織学的に小脳の Purkinje 細胞のニッスル小体の消失を認めた。

1% RNase Hanks's solution を注入したものに於いては 5 匹中 1 匹は約 2 時間後に死亡、残りの 4 匹は、動物は長く静止状態をとり、無為寡動となり餌を摂取しない。24 時間後の組織学的観察では、小脳の Purkinje 細胞、及大脳の諸神経細胞のニッスル小体の減少、或は消失を認めた。

更に直接脳実質内に RNase を注入したものの 0.5% RNase Hanks's solution を注入したものの 5 匹に於いては、その中 3 匹に小脳 Purkinje 細胞にニッスル小体の減少、或は消失を認めたが症候的には対照例と比して著変を見なかつた。猶直接針が刺入された部分は、脳を取出す際肉眼的にもわかる小出血巣があつた。

次に 1% RNase Hanks's solution を注入したものでは 5 匹全部共に、動物は静止状態を保ち、大槽穿刺をして脳脊髄液中に注入したものと同じく、無為寡動となつた。24 時間後の組織学的観察では小脳の Purkinje 細胞を始め広範囲に亘る大脳の諸神経細胞のニッスル小体の減少、及び消失を認めた。無為寡動となつた海猿はこれを放置しても、健康を回復せず 2~3 日後に殆んど死亡した。

### 総括並びに考按

RNase は RNA を分解する酵素であるから、これを動物の脳脊髄液中及び脳実質内に注入して、脳組織に多量に含まれている RNA を分解すれば、動物に何らかの形で障害が現われる事は容易に推測されることであるが、著者の得た前記の実験結果からは 0.1% 及び 0.2% RNase を脳内注入したものでは、症候的にも組織学的にも著変を見なかつた。

しかし 0.5% 及び 1% RNase Hanks's solution を注入したものに於いては、それ等の海猿は全く活動性を失ひ無為寡動となり、餌も食べなくなり、これ等の海猿の脳組織のニッスル小体の減少或は消失が認められた。この事は RNase が生きている神経細

胞内に浸入して、その RNA が分解される事を意味する。低分子量の蛋白である RNase が生細胞に浸入する事は、既に Brachet その他の実験に依つて明らかであるが、脳細胞もその例外ではない事をこの実験は示している。実験に依れば脳 RNA の減少及び消失する事は動物の運動性を低下せしめ、摂食欲も抑制する事は明らかにされたが、異常な体位をとつた例はなかつたし、又 RNA が消失したために直ちに死ぬ様な事はなかつた。海猿が 2~3 日後に死亡するのは主として飢餓に依るものであらうと思われる。蓋し、脳神経細胞の RNA の減少或は消失は海猿の活動性消失と直接関係していることは確実であり、この実験は RNase を注射して、神経細胞の RNA の分解を起させる事に依つて RNA の果す神経細胞の機能を解析出来る可能性を示したものである。又 NRase を脳実質内に注入しても、脳脊髄腔内に注入したものと同一結果を得ることは、脳実質内に注入したものはそこにとどまらず、直ちに脳脊髄液腔内に拡がり、侵され易い神経に先づ作用する事を示し、位置の保持等に必要な錐体外路関係の神経細胞の機能は可成 RNA の消失に対して insensitive である事を示している。

結 語

1) 0.5% RNase 0.2cc 以上、即ち RNase 1mg 以上を海猿の脳内に注入すれば神経細胞の RNA を分解して脳機能の障害を来たす。

2) 海猿の脳神経細胞に於いて RNA が減少或は消失すれば、その海猿は活動性を失ひ無為寡動となるが位置感覚は保たれている。

3) 以上の事実は脳神経細胞の機能が RNA の量と密接なる関係にある事を示す。

4) 海猿の脳神経細胞の RNA の減少、或は消失は直接の死因とはならない。

これ等の実験は RNase を用いる事に依り、神経細胞内に於いて RNA が果す役割を解析出来る可能性を示している。

擧筆するに臨み終始御懇篤なる御指導、並びに御校閲を賜りました恩師妹尾教授、児玉教授に深甚の謝意を表します。併せて、常に御厚意あふれる御教示を戴きました本病理学教室、小田助教授並びに教室員各位に深謝し、又色々御親切な御教示を下さつた本学精神神経科大月講師、並びに三井先生に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

<p>1) Hyden, H.: Acta Physiol., Suppl. 6, (1943)</p> <p>2) Hamberger, C. A., and Hyden, H.: Acta Otolaryngol., Suppl. L XI. 61.</p> <p>3) Hyden, H., and Hartelius, H.: Acta Psychiat. Neurol., Suppl. 48.</p> <p>4) Chantrenne, H.: Recherches sur le Mecanisme de la Synthese des Proteines (Bruxellus: Uniyersite Libre) (1950)</p> <p>5) Nucleic Acid and Protein Synthesis: Biochemical Society Symposium No. 14, (1957)</p> <p>6) Caldwell, P., and Hinshelwood, C.: J. Chem. Soc. p. 3156 (1950) Caldwell, P. C., Macker,</p>	<p>E. L. and Hinshelwood, C.: <i>ibid.</i>, P. 3151. (1950)</p> <p>7) Price, W. H.: J. Gen. Physiol., 35, 741 (1950)</p> <p>8) Brachet, J.: Chemical Embryology (New York: Interscience Publishers, Inc.) (1905)</p> <p>9) Caspersen, T.: Naturwiss, 29, 33 (1942) Cell Growth and Cell Function (New York: Norton &amp; Co.) (1950)</p> <p>10) E. R. John, B. Wenzel, R. Tschirgi, unpublished observations.</p>
--	---

小田大助教授御校閲

## On the Relationship Between Function and Ribonucleic Acid of Cerebral Ganglion Cell

### Part 1. Biological effect of RNase on the brain of guinea pig

BY

Hisao Hamada

Department of pathology, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Satimaru Seno)

#### Author's Abstract

It is well recognized that those cells, requiring protein synthesis as growing immature cells or the secretory gland cells, contain a large amount of RNA in their cytoplasm, thus ribonucleic acid in the cytoplasm plays a very important role in the protein synthesis. Although cerebral ganglion cells contain a fairly large amount of RNA in their cytoplasm, the cell growth, cell division and protein secretion are not usually observed in these particular cells.

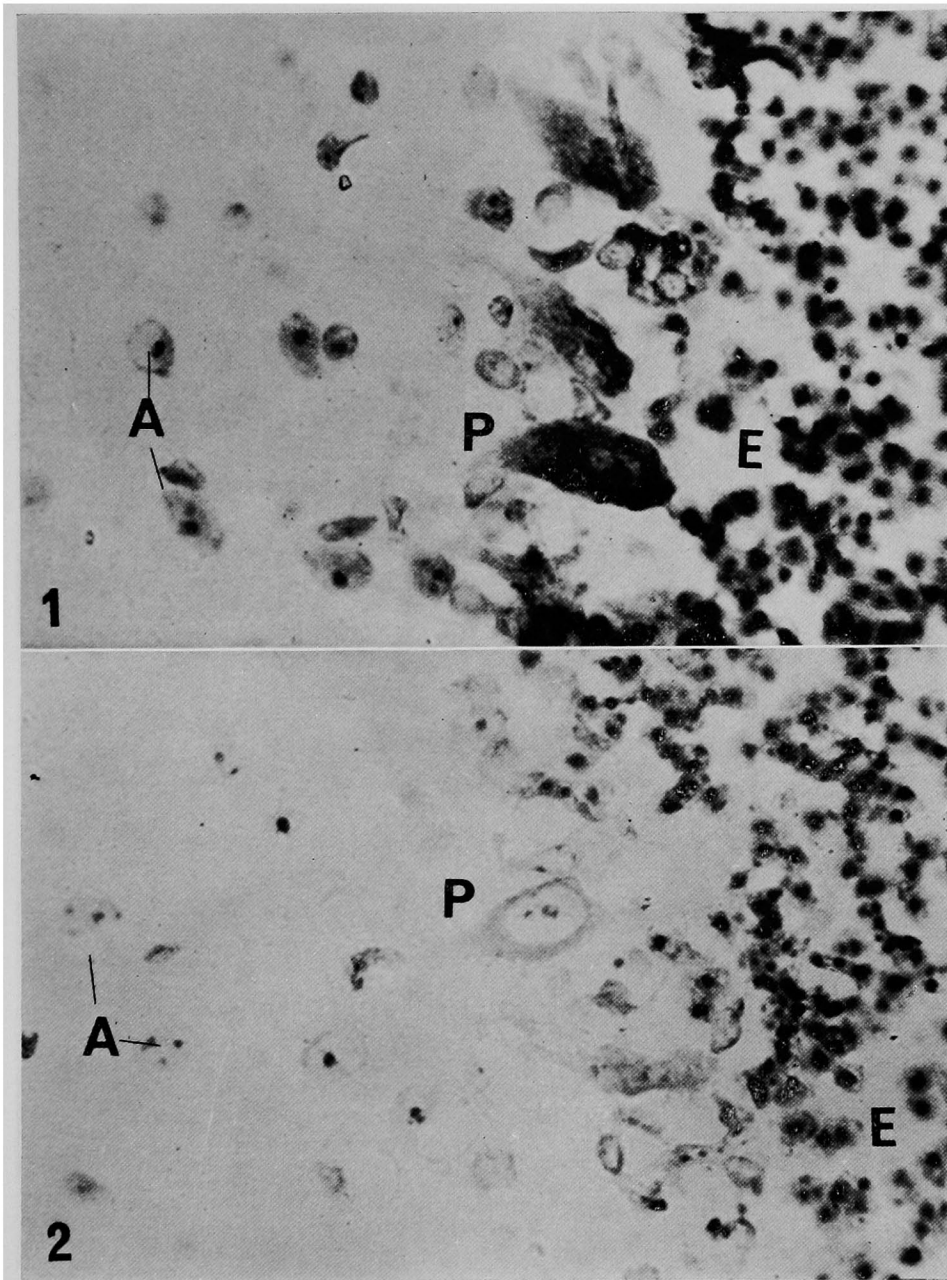
High level of RNA of the cerebral ganglion cells may have an intimate relation with the highly differentiated cell function of the cerebral ganglion. For the purpose to elucidate the high level of RNA in the cerebral ganglion cells and its function, the author injected ribonuclease into the brain and liquor of guinea pigs to decompose RNA in the brain tissue. The behaviors of the animal under these conditions were observed, and also histological examinations were performed with each animal. As the result the following points were clarified.

1) when over 1 mg of RNase was injected into the brain, it caused lytic change of RNA in the cerebral ganglion cells and functional disturbances such as immobility, but the animal still retained the orientation ability.

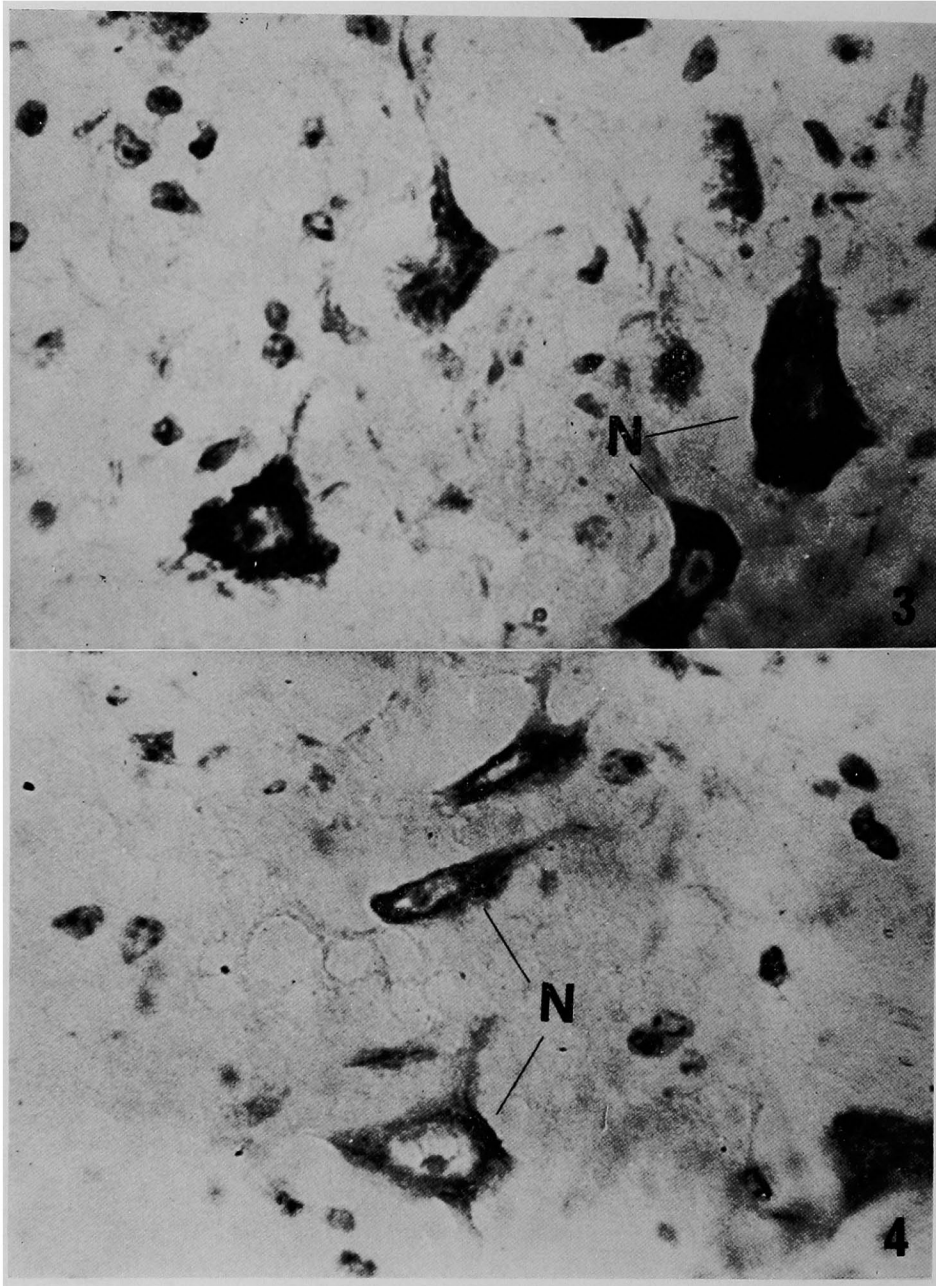
2) It was confirmed that neither reduction nor disappearance of RNA in the cerebral ganglion cells could be the real cause of the experimental guinea pigs. These results suggest that this method would serve adequately for the analysis of the role of RNA in the brain cells.

---

浜田論文附図(1編)

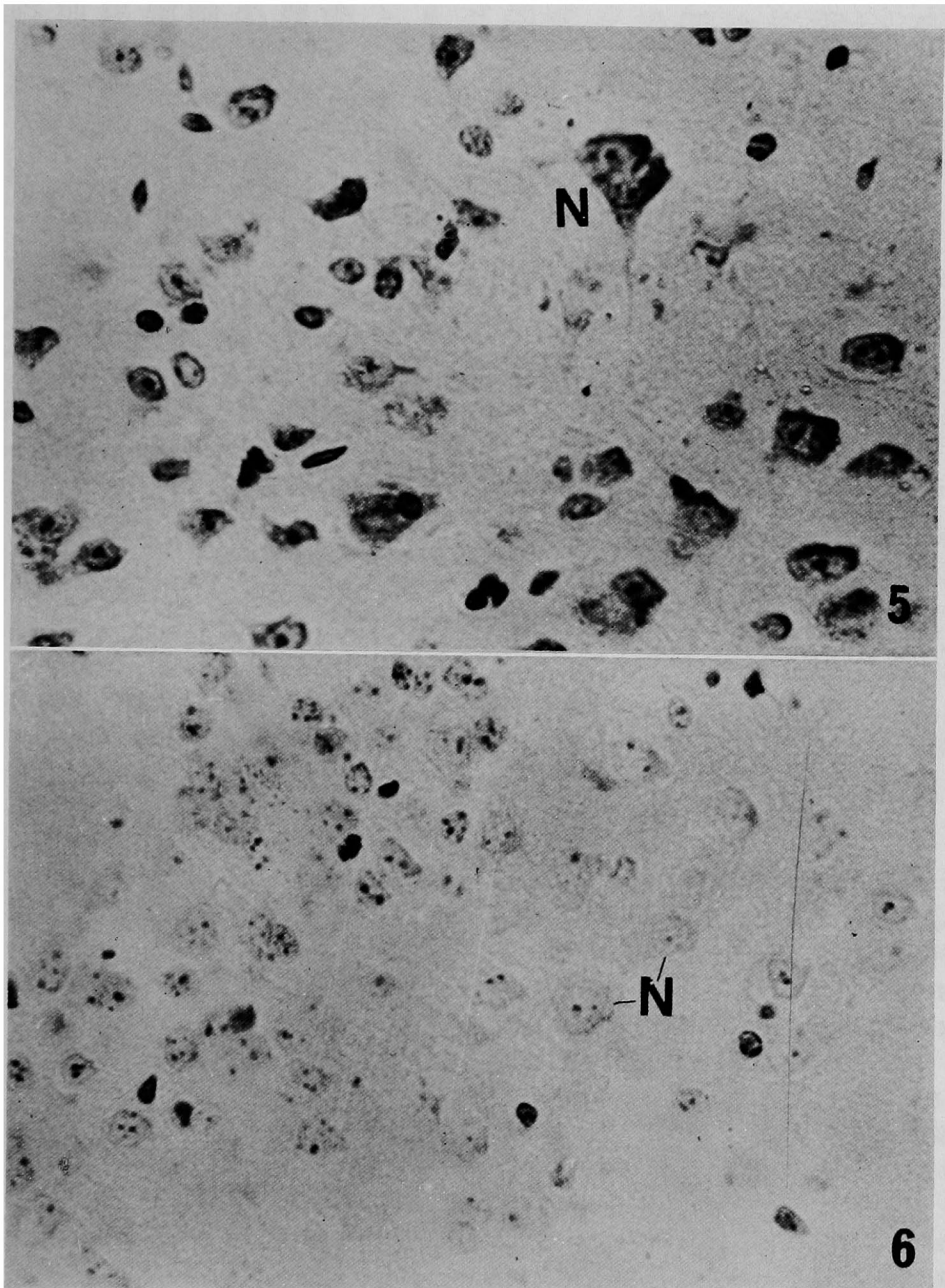


1. 対照として Hanks's solution を脳内に注入, 24時間後の小脳切片各細胞は正常のものと変わらない。  
 方法: 本文参照 A 分子層の細胞, P プルキンエ細胞 E 顆粒層の神経細胞  
 エタノール固定 ニッスル染色×400
2. 1% RNase Hanks's solution を脳内に注入, 24時間後の小脳切片プルキンエ細胞, 分子層, 顆粒層の細胞いづれも, ニッスル小体乃至好塩基性の著明な減少を認める。  
 方法: 本文参照 A. P. E. は1に同じ エタノール固定 ニッスル染色×400



3. 対照として Hanks 氏溶液を注入, 24時間後の脳橋の運動神経細胞, 正常, 処理は 1 と同一  
N: 運動神経細胞 エタノール固定 ニッスル染色 ×400
4. RNase 処理動物の脳橋の運動神経細胞, 細胞質の染色性低下に注意  
N: 運動神経細胞 処理は 2 と同一 エタノール固定 ニッスル染色 ×400

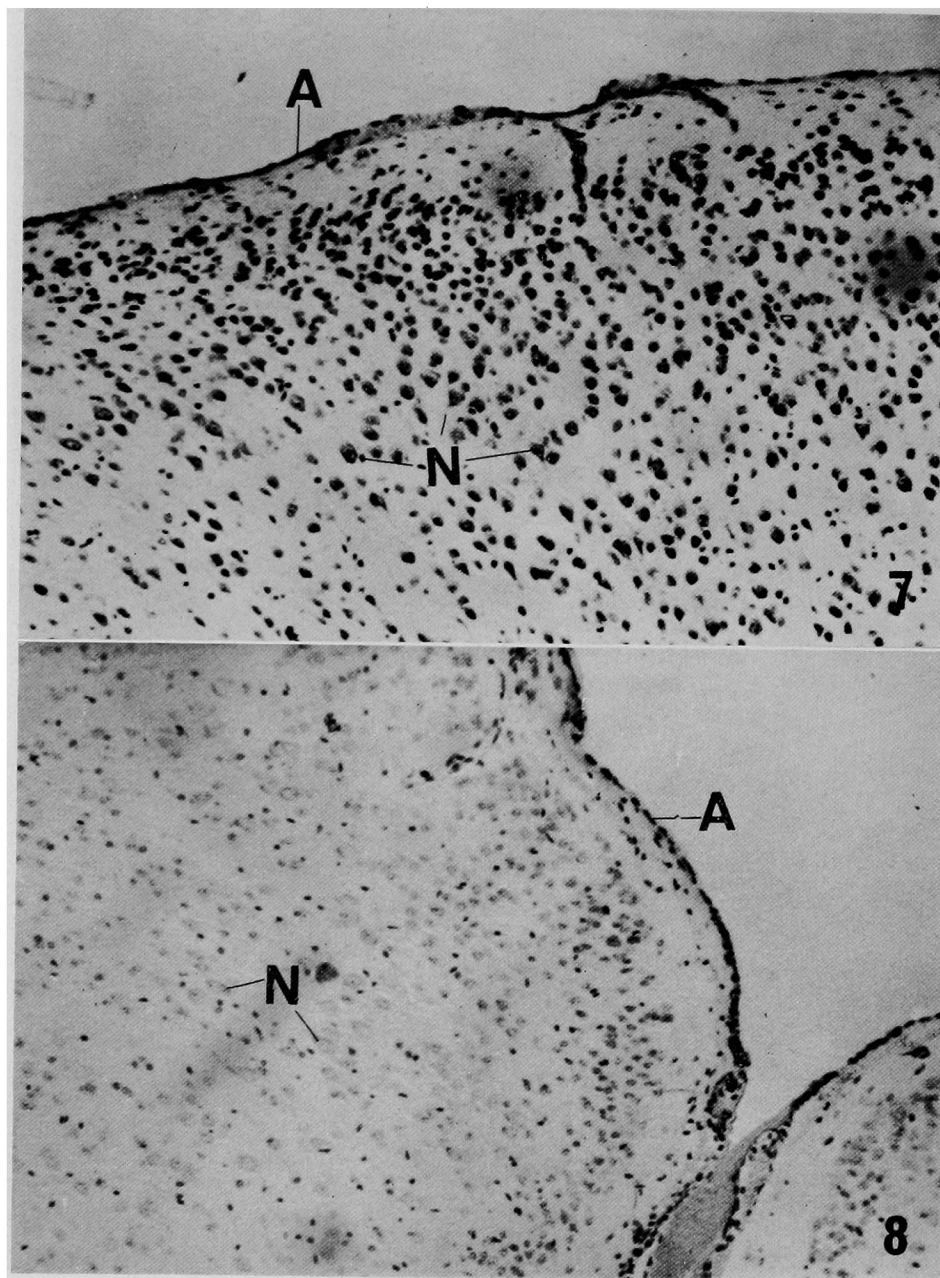
浜田論文附图



5. 対照動物の大脳皮質の神経細胞，各細胞の染色性良好1と同一処理  
N：大脳皮質神経細胞 エタノール固定 ニッスル染色 ×400

6. RNase 処理動物の大脳皮質の神経細胞，細胞質の染色性は減少し核小体が辛じて染まっている。  
N：大脳皮質神経細胞 エタノール固定 ニッスル染色 ×400





7. 対照動物の大脳皮質の神経細胞，弱拡大，全体として染色性良好，処理は1と同一  
 A 皮質軟膜， N：神経細胞 エタノール固定 ニッスル染色 ×100
8. RNase 処理動物の大脳皮質，弱拡大，皮質細胞が全体として染色性低下  
 A. N. 7と同一， 処理は2のものと同じ エタノール固定 ニッスル染色 ×100