

γ - アミノ酪酸に関する研究

森 昭 胤 野 田 昌 子
黒 田 正 清 戸 田 茂

緒 言

1950年, Roberts らおよび Awapara らが動物脳に γ-アミノ酪酸 (γ-aminobutyric acid, 以下 GABA と略す) が大量に含有されているという事実を発見して以来, GABA に関する研究は急速に発展し, 今日では生理学的, 生化学的, 薬理学的などあらゆる立場から研究が進められ, 最近においては臨床的にも使用されている現況であるが, これら GABA 研究の概要は Roberts¹⁾, Elliott²⁾, Roberts³⁾ および著者 (陣内・森)⁴⁾⁵⁾ の綜説により伺うことができる。

著者 (森) は数年来, ヒト真性てんかん脳の生化学的研究と関係して GABA を神経化学的立場から研究しているが, ^{6)~8)}ここに最近の GABA 研究に関する 2, 3 の基礎的実験の成績を示し, これに対する検討を試みることにする。

I 脳髄における GABA の存在と代謝

植物からの GABA の証明或は抽出はすでに 1947 年頃より行われていたが, 動物体より GABA が分離されたのは 1950 年に Roberts⁹⁾ ら及び Awapara¹⁰⁾ らによって行われたのが最初である。Awapara¹⁰⁾ は牛の新鮮な脳髄から, potato starch column chromatography を用いて butanol-酢酸-水, 2:1:1 の solvent で溶出して m. p. 200°C の物質を分離し, GABA と paper chromatogram で一致することを報告した。同時にヒト, モルモット, ラット脳にも存在することを明かにした。Roberts⁹⁾ らも同年マウス脳中に存在することを明かにしている。

さて, 著者ら (山本, 森, 陣内) もヒト脳髄に存在する遊離アミノ酸の分析を行つた。実験方法はイオン交換樹脂 IR120 を使用する Stein and Moore¹¹⁾¹²⁾ の改良法であるが, 第 1 表にその成績をあげる。

これらの試料は岡山大学医学部陣内外科教室において施行された脳外科手術のさいに剔除された大脳皮質であり, 非てんかん例は主として脳腫瘍患者の正常脳組織である。したがつて, まったく正常人の数値を示すというわけにはいかないが, 比較的正常人の大脳皮質遊離アミノ酸含有量を示すものと考えられる。この成績からみると GABA は大脳皮質には 7~9 μM/g 含有せられているが, これにより GABA はグルタミン酸に次ぎ大量に存在するアミノ酸であることがわかる。

さて, このように GABA は生体中に脳に限局して, しかも大量に存在するのであるが, これは何に由来するものであろうか。まず, 食物成分から摂取したものが, 撰択的に脳に移行するかどうかについて調べてみよう。食物成分中の GABA が腸管吸収され血中に移行することには問題はない。従つて焦点は blood-brain barrier にしぼられる。GABA が blood-brain barrier を通過するかどうかについては諸家²⁾ によって検索がなされているが, 決定的なものはない。著者ら (森, 高坂) はこの点を解明するため ¹⁴C で labell した GABA (γ-amino butyric acid-1-¹⁴C,

第1表 Free Amino Acids in Human Brain

| case Part Amino acid | Non epileptic | | | | | A. V. | Epileptic | | | | | A. V. |
|---------------------------------|---------------|---------|---------------|----------------------------|---------------------|--------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------------------|--------|
| | W. ♀ | O. ♀ | S. ♂ | M. ♀ | E. ♀ | | S. ♂ | I. ♂ | N. ♂ | Y. ♀ | T. ♂ | |
| | frontal | frontal | tem- poral | occipito- tem- poral | fronto- parietal | | tem- poral | tem- poral | tem- poral | tem- poral | fronto- tem- poral | |
| Glycerophospho- ethanolamine | 1.386 | 0.508 | 1.116 | 2.337 | 1.155 | 1.300 | 3.218 | 1.493 | 1.614 | 1.386 | 1.512 | 1.845 |
| Phosphoethanol- amine | 3.685 | 1.192 | 1.477 | 2.874 | 1.481 | 2.142 | 2.165 | 0.595 | 0.986 | 2.439 | 1.117 | 1.465 |
| Taurine | 1.236 | 1.427 | 1.672 | 0.975 | 2.805 | 1.623 | 1.765 | 1.410 | 1.493 | 1.428 | 1.510 | 1.521 |
| Urea | 18.528 | 11.500 | 13.410 | 10.287 | 19.850 | 14.219 | 16.077 | 10.110 | 10.997 | 11.500 | 9.776 | 11.692 |
| Aspartic acid | 2.306 | 2.018 | 3.017 | 2.130 | 2.230 | 2.340 | 3.423 | 2.298 | 2.808 | 3.018 | 3.123 | 2.934 |
| Threonine | 0.803 | 0.754 | | 1.048 | 0.700 | 0.826 | 0.745 | 0.696 | 0.706 | 0.711 | 0.752 | 0.722 |
| serine | 0.911 | 0 | | 1.217 | 0.958 | 1.029 | 0.818 | | 0.794 | 0.811 | 0.874 | 0.822 |
| Glutamic acid | 8.834 | 9.790 | 9.403 | 8.905 | 8.096 | 9.006 | 11.915 | 9.793 | 11.748 | 9.794 | 10.649 | 10.780 |
| Glycine | 0.707 | 0.901 | 1.837 | 0.855 | 1.050 | 1.070 | 0.476 | 0.536 | 0.512 | 0.701 | 0.642 | 0.573 |
| Alanine | 0.651 | 0.609 | 0.710 | 0.676 | 0.665 | 0.622 | 0.572 | 0.949 | 0.639 | 0.779 | 0.701 | 0.668 |
| Valine | 2.688 | 1.435 | 0.455 | 0.715 | 0.466 | 1.152 | 0.084 | 0.140 | 0.160 | 0.188 | 0.135 | 0.141 |
| Cystathionine | 2.368 | 3.488 | 0.828 | 1.999 | 2.041 | 2.145 | 1.375 | 1.451 | 2.957 | 1.510 | 1.900 | 1.838 |
| Isoleucine | 0.560 | 0.338 | 0.583 | 0.473 | 0.606 | 0.512 | 0.410 | 0.385 | 0.396 | 0.338 | 0.357 | 0.377 |
| Leucine | 0.476 | 0.312 | 0.443 | 0.391 | 0.408 | 0.406 | 0.342 | 0.315 | 0.326 | 0.340 | 0.310 | 0.327 |
| GABA | 7.636 | 7.620 | 7.898 | 8.799 | 6.965 | 7.784 | 6.073 | 5.126 | 6.750 | 6.810 | 6.105 | 6.173 |

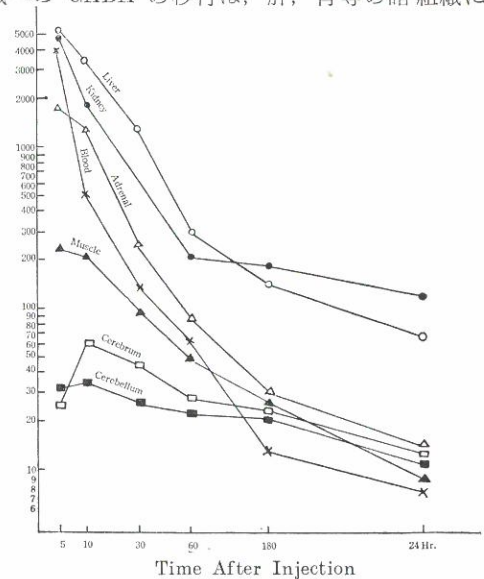
unit : umole/g.

In epileptic case of I ♂ and nonepileptic cases W ♀, S ♂ and ♀ intravenous drop infusion of urea was performed during operation, for the purpose of preventing brain edema. The blank parts are the parts of overlap.

(Yamamoto, Y., Mori, A., Jiuuui, D. : J. Biochem. 49, 368, 1961)

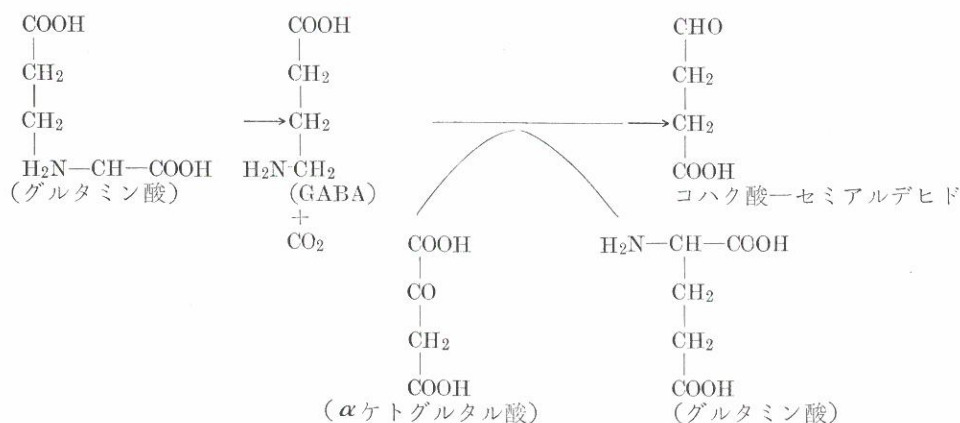
Specific activity : 1.3mC/mM) を 2μC 宛マウスに静注したのち、種々臓器への incorporation を検した。その成績は第1図に示すごとく、脳組織への GABA の移行は、肝、腎等の諸組織に比し極めてわずかであることがわかった。このことは脳内の GABA の大部分は血漿に由来するものではなく、脳自身の中で生成されているものであろうことを示唆する。

GABA の脳内での生成過程に関してすでに1950年 Robret⁹⁾¹³⁾らはマウス脳の homogenate, washed residue あるいは aceton powder にグルタミン酸を負荷すると GABA が増加すること、および ¹⁴C グルタミン酸を用いた tracer 実験では、radioactive GABA の生成と decarboxylation とが行われることを明かにしている。一方 Awapara¹⁰⁾も Warburg 検圧法により、グルタミン酸から脱炭酸によって GABA の生成されることを明かにしている。すなわち、glutamic decarboxylase によりグルタミン酸から GABA が生成されるのである。glutamic decarboxylase は動物では中枢神経系にのみ存在する酵素であるが、その coenzyme は pyridoxal

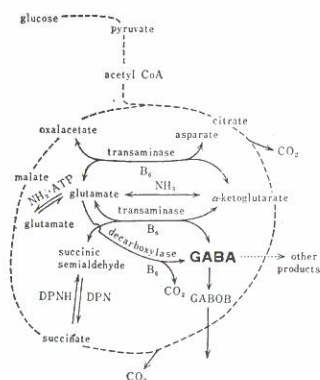


第1図 Deposition of C¹⁴-GABA in Various Tissues and the Brain (Mori, A, Kosaka, M. : Polia psychiatr. et. Neurolog. 15, 92, 1961)

次に、GABA は脳内ではどのように代謝されるのであろうか。前述のごとく GABA は人の正常大脳皮質にはきわめて大量に存在しており、しかもきわめて活発に代謝されていると考えられる。そのことは第1表からも知ることができる。Roberts¹⁾ は ¹⁴C-GABA を脳内に注入すると、その radioactivity は1時間後には3%、3時間後には1%しか検出されなくなるほど急速に代謝されていることを示しているが、この場合 GABA 代謝のもつとも主要な経路は GABA-glutamic transaminase によるアミノ基転移反応であると考えられる。すなわち、GABA はアミノ基を α -ケトグルタル酸に転移し、GABA 自身は succinic semialdehyde になる。これは Bessman および Roberts¹³⁾ らによって明かにされたものである。従って、以上の代謝過程を総括すると下記のごとくである。

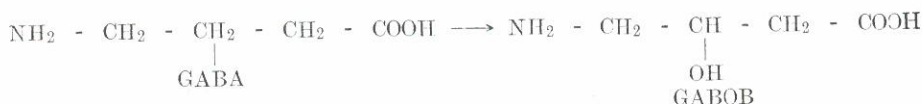


以上の GABA 代謝を一括して図示すると第 2 図のごとき map がえられる。



第2図 GABA を中心とする代謝
(陣内, 森: 治療42, 2189, 1960)

以上が GABA の 主要を代謝過程の幹路と
 ちいうべきものであるが、最近、GABA の一
 部は脳内で β 酸化をうけて γ -amino- β -hydroxy-
 butyric acid (GABOB) になることなが明かに
 された、この物質が脳内に存在することおよ
 び GABA から生成されることは大原¹⁶⁾、井
 上¹⁷⁾ らにってて相次いで証明されるに至っ
 た、井上 ¹⁴C-GABA をヒトおよびウサギ脳
 homo-genate と incubate したのち、これをア
 ルコールにて抽出し、これを paperchromat-
 ography で展開したものの radiogram から



なる反応が行われることを明かにするとともに、牛脳からGABOBの結晶を分離した。GABOBは正常人大脳皮質にはGABAの約1/10の約30mg%程度含有されている。本物質は近年、林ら¹⁸⁾により中枢亢奮抑制物質としての研究以来きわめて注目を集めているが、その生理的意義については林の著書¹⁹⁾を参照されたい。

GABAの脳代謝過程として他に明かにされているもの、或は推定されうるものにはその他2, 3あるが、著者(陣内, 森)の他の総説¹⁹⁾に記してあるのでここでは割愛する。

II 脳の物質代謝とGABA

GABAは既述のごとく、生体内では脳に主として存在し、脳の機能となにか主要な関連を有するであろうと推察されているが、その解決はまだみていない。その解決の鍵として近年2, 3の酵素系とGABAの関係が明かにされている。

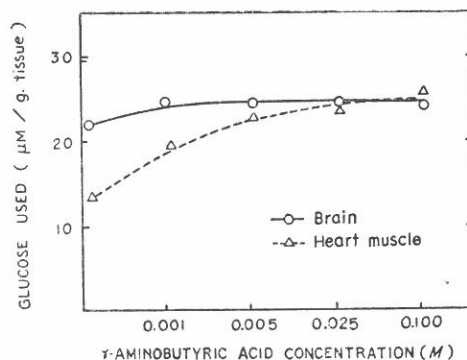
1) acetylcholine 代謝とGABA

久田ら(1955)²⁰⁾によれば、トノサマガエルおよびマウス脳を用いた実験では、GABAはacetylcholineの生成を促進するという。しかし、cholinesterase活性にはほとんど影響を与えない。このことから、脳神経活動においてacetylcholineの代謝とGABAはなんらかの関係で結ばれていると推定される。なお、山口²¹⁾によるヒトてんかん脳についての実験ではGABAはてんかん脳のcholinesterase活性の亢進を低下させる作用がある。

2) hexokinase 活性とGABA

glucoseが生体内で利用される場合、それはまずhexokinaseにより6位の炭素の位置でリン酸エステル化されてはじめて代謝の流れにはいる。脳は活動のenergyをもっぱらglucoseに仰いでいるので脳の活動にとってhexokinaseはもっとも重要な酵素の1つといわねばならない。

著者(森)²³⁾はこの点に注目してhexokinaseに及ぼすGABAの影響を検索した。すなわちLongの実験系に種々の濃度にGABAを添加し、hexokinase活性を測定した結果第3図のごとき成績をえた。すなわち、GABAは心筋のhexokinaseを著明に促進するが、脳のhexokinaseには軽度にしかな作用しない。この事実を脳は他の諸組織と比し著しく高いhexokinase活性をもっているということに考え合せると、脳ではGABAを添加しなくても正常時において常に存在するGABAがhexokinase活質を常に促進させており、本実験では $10^{-3}M$ のGABAの添加で最大促進にまで達するものと考えられる。GABAがhexokinase活質を高めるということは、脳内でGABAが脳のenergyを促進することであり、極めて注目に値する。なお、本実験にさいし、GABAと類似構造を有する化合物についても同様な検索を行ったが、 δ -aminovaleric acid



第3図 Influences of γ -aminobutyric acid on the brain and the heart muscle hexokinase. (Mori, A. J. Biochem. 12.85.1958)

のごとき $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ なる構造を有するもののみが、同様な効果を有することを知った。

III GABA の生理学的小および薬理学的作用

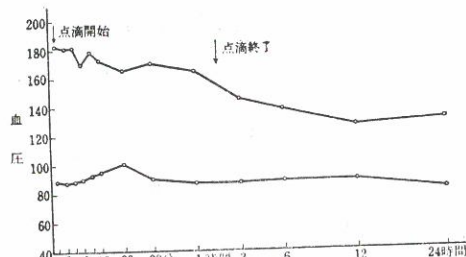
1) GABA と組織呼吸

住田²⁴⁾ (1954) はマウスの組織呼吸に及ぼす GABA の影響を調べ、脳切片、肝 homogenate でアンモニアの発生をみることなく酸素消費の増大することを見出した。次いで、久田²⁵⁾ らはモルモットを用いて、これを追証するとともに、さらに pyridoxal によってこの作用は影響されないこと、および、亜硫酸により阻害されることを明かにした。一方、ウサギに GABA を静注すると著明に呼吸を促進するという報告がある。²⁶⁾

以上の事実は GABA が組織内で酸化脱炭酸をうけるためとも考えられるが、著者の hexokinase 活性におよぼす GABA の影響についての研究成績と考え合わせると、GABA により glucose の利用が促進される結果、TCA cycle の廻転が活発になるためではなからうかと考えられる。

2) GABA と血圧

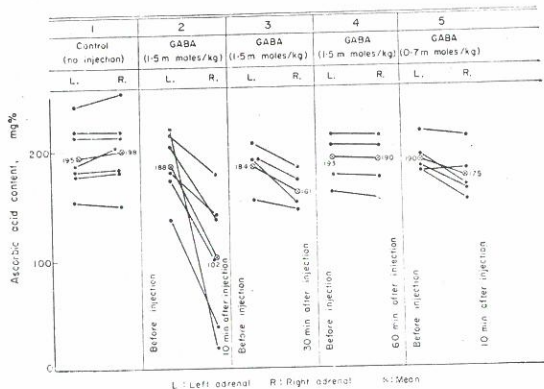
久田ら (1954)²⁷⁾ は、チオペンタール静注麻酔を行ったウサギの頸動脈圧におよぼす GABA の影響をしらべ、GABA の血圧降下作用を認めている。その後、高橋²⁸⁾ ²⁹⁾ により、GABA の血圧降下作用が詳細に研究され、今日では中枢性血圧降下剤として臨床的にも広く利用されている状態である。これらに関しては高橋²⁸⁾ ²⁹⁾ の原著を参照されたい。いこではただ著者が高血圧患者に投与し良好な結果をえた 1 例を示しておく。(第 4 図)。



第 4 図 有○ 謙○ 19才

3) GABA と副腎

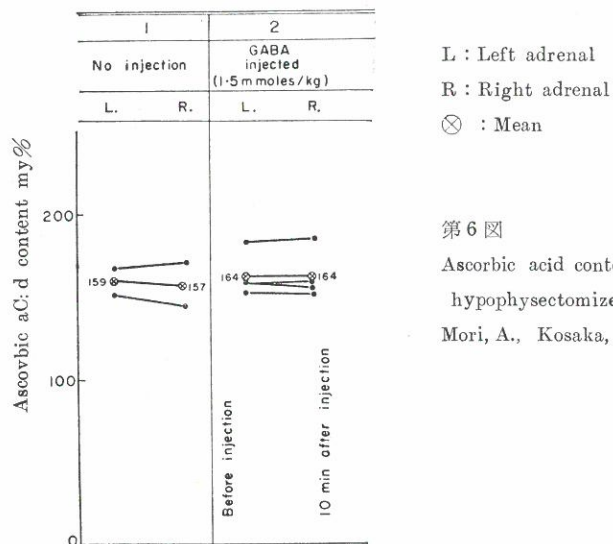
1961年、著者 (森、高坂)³⁰⁾ ³¹⁾ により GABA が副腎に強力に作用することが見出された。すなわち、GABA を 1.5mM/kg 体重あたりウサギに静注すると 10 秒後には副腎の Ascorbic acid 含有量が激減する。この理由を検索するため脳下垂体を摘出したウサギについて同様な実験を行ったところ、この場合は正常ウサギに認められた効果を認めなかった。このことは GABA の副腎への作用は脳下垂体を経た行われることを示唆している。またこの作用は glycine, β alanine, glutamic acid, aspartic acid, GABOB, asparagine 等のアミノ酸、或は, histamine, n-butylamine 等のアミンには認められないものである (第 5, 6, 7 図)。



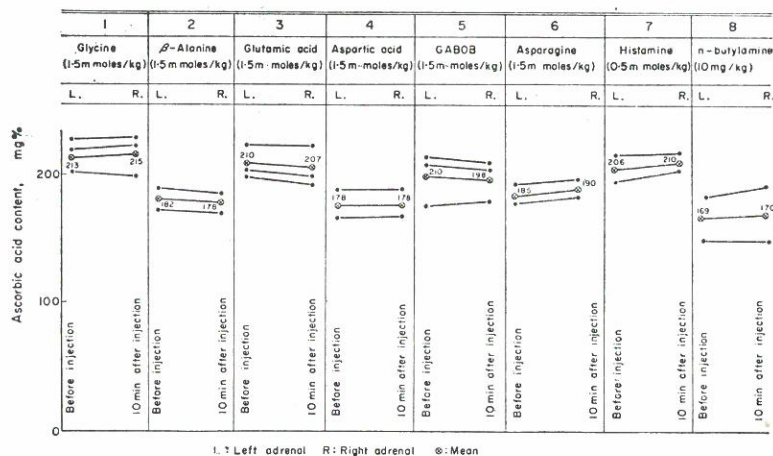
第 5 図

Ascorbic acid content of adrenals before and after injection of GABA.

Mori, A., Kosaka, M.: J Neurochem 7. 313. 1961

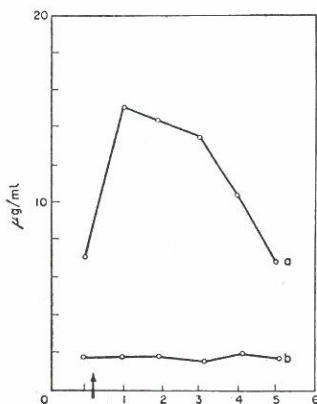


第6図
Ascorbic acid content of adrenals of
hypophysectomized rabbits.
Mori, A., Kosaka, M : 第5図と同誌



第7図 Ascorbic acid content of adrenals before and after injection
of amino acids or amines
Mori, A, Kosaka, M. 第5図と同誌

その後、尿中への副腎皮質ホルモン 17-hydroxycorticoid (17-OH. CS) 排泄に及ぼす影響を検索



第8図

Changes in 17-OH-CS excreted in the urine after the injection of 200mg GABA/kg

a: mean of 4 cases of normal rabbits
b: mean of 2 cases of hypophysectomized rabbits.

(Kosaka, M., Mori, A. : J. Neurochem. 8. 152. 1961)

したが、この場合にもGABAは副腎に作用して、17-OH. CSの尿中排泄を促進するとき成績をえた。また、17-OH. CS排泄作用も、下垂体を介して行われるようである(第8図)。GABAと副腎の関係は、GABAの作用の新しい部門であり、今後さらに研究されねばならぬ課題が残されている。

4) GABAと体温

久田ら²⁷⁾によるとGABAをウサ

ギに投与すると3時間後に0.4~0.7°Cの体温上昇がみとめられるという。これは GABA の組織呼吸促進作用並びに energy 代謝亢進作用に基づくと考えられる。

5) GABA と痙攣

1M 以上の濃度の GABA をイヌ或はネコの大脳皮質運動領に与えると間代性痙攣をひきおこすという。³²⁾しかし、著者ら(西本, 沼本, 森)³³⁾は5%の GABA をヒト真正てんかん患者の大脳皮質運動領に添布して electrocorticogram (ECG) にみられる after discharge を消失せしめた。この両者の実験成績は一見相矛盾するものであるが、GABA は大脳中では非常に不安定な物質であり、種々物質の precouser でありうることを想起すれば説明されえよう。すなわち、林³⁴⁾によると、GABA をビタミン B₁₂ と ATP, あるいは B₁₂ と B₁ と同時に添加すると痙攣を誘発するが、これは亢奮物質が生成されるからであるという。一方、GABA は体内の条件如何により、抑制物質の GABOB に移行する。すなわち、GABA は亢奮と抑制両者の前駆物質なのである。

6) GABA と浮腫及び尿量

山口ら³⁵⁾は昏睡例に応用して昏睡覚醒とともに尿量の増加、浮腫減少を認めている。著者(森, 高坂)³⁶⁾も実験的に証明しているが、これらの作用は副腎刺激作用によって説明しようと考えている。

IV む す び

GABA は脳内にあって中枢機能に関与し、調節的作用を有する代謝物として重視されており、これの代謝異常とてんかん痙攣等の疾患との関連が明かとされている。本論文では今日までに明かにされている GABA の脳内における代謝およびその作用を著者らの研究を中心にして総括したものである。これらの研究は現在途上にあるものも多く、とくに脳機能における役割についての詳細な研究は今後に残された大きな課題である。

文 献

- 1) Roberts, E. : Neurochemistry : edited by Korey, S. R. and Neurnberger, J. I. A Hoeber-Harper Book : PP. 11, 1956
- 2) Elliott, K. A. C. Biochemistry of the Central Nervous System, edited by Brücke : Pergamon Press : P. 251. 1959
- 3) Roberts, E. and Baxter, C. F. : *ibid.* PP. 268. 1959
- 4) 陣内伝之助 : 森昭胤 : 日新医学 45, 1, 195
- 5) 陣内伝之助 : 森昭胤 : 神経研究の進歩 4, 531, 1960
- 6) Jinnai, D. and Mori, A. : Acta Medicina Okayama, 14 116, 1960
- 7) Jinnai, D. and Mori, A. : Acta Neurologica (Napoli) 15, 491 (1960)
- 8) Jinnai, D. and Mori, A. : 7th International Congress of Neurology (Roma) 1961
- 9) Roberts, E. and Frankel, S. and Harman, P. J. : Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 74, 383, 1950 : J. Biol. Chem. 187. 55 1950
- 10) Awapara, J., Landua, A. J., Fuerst, R. and Seale, B. : J. Biol. Chem. 187. 35, 1950
- 11) Moore, S., Spackman, D. H. and Stein, W. H. : Anal. Chem. 30, 1185, 1958.
- 12) Moor, S., Spackman, D. H. and Stein, W. H. : *ibid.* 30. 1190 (1958)
- 13) Robers, E. and Frankel S. : J. Biol. Chem. 188, 789 (1950) : *ibid.* 190, 505, 1951
- 14) Bessman, S. P., Rossen, J. and Layne, E. C. : J. Biol. Chem. 201, 385, 1953.
- 15) Mori, A. and Kosaka, M. : Folia Psychiatr. et Neurolog. 15. 93, 1961

- 16) 大原和男：生化学 30, 981, 1959
- 17) 井上和久：生化学 31, 127, 1959
- 18) Hayashi, T : Chemical Physiology of Excitation in Muscle and Neure, Nakayama shoten Ltd. 1958.
- 19) 陣内伝之助, 森昭胤：治療 42, 2189, 1950
- 20) 久田四郎, 中島敏雄, 羽土妙子…日本薬理学雑誌 51, 141, 1955
- 21) 山口勉也：岡山医学会雑誌 71, 4671, 1959
- 22) Long, C. : J. Biochem. J. 50 407. 1952
- 23) Mori, A. : J. Biochem. 12. 85. 1958
- 24) 住田新平：米子医誌 7. 300. 1956
- 25) 久田四郎, 中島敏雄, 大羽悠香, 日本薬理学雑誌 51, 877, 1955
- 26) 高橋日出彦, 千葉正子, 渡野貢, 寺師博, 渡辺恭二：東京医科大学雑誌 13, 257 1955
- 27) 久田四郎, 水野潤二, 中島敏雄：日本薬理雑誌, 50, 218, 1954
- 28) Takahashi, H, Chiba, M., Yamazaki, T. and Noguchi, F. : Jap. J. Physiol. 8, 378, 1958
- 29) 高橋日出彦他：臨床内科小児科 14, 527, 1959
- 30) Mori, A. and Kosaka, M. : J. Neurochem. 7, 313 1961
- 31) Kosaka, M. and Mori, A. : J. Neurochem. 8, 152, 1961
- 32) 中脩三：神経化学 276 (医学書院) 1954
- 33) 西本詮, 沼本満夫, 森昭胤：総合臨床投稿中
- 34) 林猷：個人的教示による。
- 35) 山口与市, 男全正三：診断と治療 43, 1017, 1955
- 36) 森昭胤, 高坂睦年：未発表