

# 大脳半球剔除ラット残存半球皮質の 蛋白代謝について

—— 中枢神経系の可塑性に関連して ——

新潟大学脳研究所脳神経外科教室（主任：田中隆一教授）

渡 辺 達 雄

Protein Metabolic Change of the  
Remaining Cerebral Hemisphere  
Consequent to Hemispherectomy  
—In Relation to the Plasticity  
of Central Nervous System—

Tatsuo WATANABE

*Department of Neurosurgery,  
Brain Research Institute,  
Niigata University, Niigata  
(Director: Prof. Ryuichi TANAKA)*

Remarkable functional recovery has been observed in the hemispherectomized animals and it is conceivable that the remaining cerebral hemisphere is responsible for this recovery.

To disclose biochemical basis of this functional recovery, rats were hemispherectomized neonatally or at 3 month after birth, and proteins of the remaining cerebral hemisphere were analyzed.

At one, two and four weeks after the hemispherectomy,  $^{14}\text{C}$ -labelled leucine was injected intracerebrally and rats were decapitated one hour after the injection. The proteins were fractionated into water-, Triton X100- and SDS-soluble fractions and analysed by SDS polyacrylamide gel- and by two dimensional gel-electrophoresis.

CBB stained protein-profiles and relative specific activities of the main proteins calculated from densitograms of radioautography and CBB staining were compared between the hemispherectomized rats and the control rats.

The present results revealed that appreciable extent of changes in protein metabolism in the remaining cerebral hemisphere is not necessary for the functional recovery of the

---

Reprint requests to: Tatsuo WATANABE,  
Department of Neurosurgery  
Takeda General Hospital 3-27,  
Yamagamachi, Aizuwakamatu City, 965,  
JAPAN.

別刷請求先：〒965 会津若松市山鹿町3-27  
竹田総合病院脳神経外科 渡辺達雄

hemispherectomized rat.

Key words: hemispherectomy, plasticity, protein metabolism, electrophoresis

大脳半球剔除術, 可塑性, 蛋白代謝, 電気泳動

## はじめに

哺乳類の神経系が器質的損傷を受けたとき, 神経細胞の再生や増殖は観察されていない。しかしながら動物およびヒトの疾患, たとえば片側性脳性麻痺患者に対して, 大脳半球剔除術を行なった場合, 患側の運動・知覚の機能および知能が術前よりも改善することさえある等<sup>3)4)5)</sup>, 機能的に相当な回復がみられるという事実がある。ことに未熟な動物では, 成熟動物よりも神経系の変化に対してずっとよく機能的に代償すると言われている。現在, 形態学的・生理学的には中枢神経系の多くの場所で可塑性シナプスが見いだされるようになり, 学習や記憶などの基礎となる神経機構として注目されている<sup>10)13)16)18)19)</sup>。それに反し中枢神経系の可塑性に関連して, 神経損傷後の神経回復を生化学的に研究した報告は著しく少ない。

成熟ラットでは片側大脳半球の剔除を行なっても, 2週間程度で片麻痺は著明に改善し, やがてほぼ正常に近い行動を示すようになる。また幼若ラットを大脳半球剔除した場合は, 成熟後も何ら神経学的欠損を示さないように見える。このことは脳残存部が今まで以上の働きを新たに獲得したためと考えられる。ラット大脳半球剔除後の神経機能の回復・維持に残存脳組織が関与しているならば, 神経機能に必要な物質, 特に蛋白代謝が残存脳組織で高まるであろうことが想像される。このことよりラット大脳半球剔除後における残存大脳半球皮質の蛋白質組成および代謝の変化をみることにした。神経機構が未熟で代償能力の強い幼若ラットすなわち生後1日以内のラットと, 既に基本的神経回路が完成した段階と考えられる3ヶ月成熟ラットを実験モデルとし大脳半球剔除術を行なった。

## 材料と方法

## 1) 試薬

Tris base は Sigma 製, Triton X-100・尿素・過硫酸アンモニウムおよび dimethylsulfoxid は和光製, Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) は半井製, N,N'-methylene bis acrylamide と acrylamide は, 等電点電気泳動では Eastman-Kodak 製, SDS 電気泳動には半井製を用いた。TEMED および  $\beta$ -mercaptoethanol は Sigma

製。Ampholine は LKB 製。DPO は同仁製。その他の薬品は一般に市販されているものを使用した。

## 2) 実験動物および大脳半球剔除術

実験動物はウィスター系ラットを用い, 生後1日以内の幼若ラットおよび生後3ヶ月のオス成熟ラットに対して大脳半球剔除術を施行した。エーテル麻酔下で, 右頭頂部に小骨窓を開け, 細いガラス管で脳実質を吸引除去することにより右大脳半球を剔除した。手術後1週間目および4週間目に, 手術創に感染がないことを確認し, また著しい栄養障害の無いもののみを以下の実験に供した。

## 3) 脳蛋白の抽出

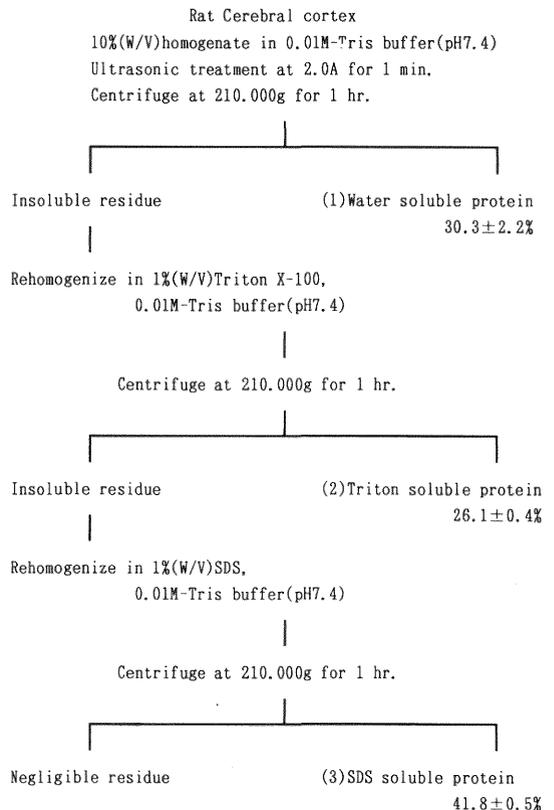


Fig. 1 Scheme for sequential extraction of rat cerebral cortex protein.

ラットはエーテル麻酔下で、心臓より生理食塩水で還流したのち、ただちに断頭し脳を摘出して、以下の操作は氷室（2～4℃）中で行なった。大脳皮質のみを分離して材料とし、Grossfelt and Shooter の方法<sup>24)</sup>をやや簡素化し、Fig. 1 の如く 0.01 M Tris buffer pH 7.4 の低張緩衝液、1% Triton X-100, 1% SDS により連続的に抽出を行ない蛋白成分を3分画とした。

#### 4) 電気泳動

Laemmli の方法<sup>11)</sup>に従い、東洋の平板ゲル電気泳動装置を用いて氷室中で行なった。蛋白抽出は蛋白変性をさけるため抽出後ただちに2.3% SDS, 5%  $\beta$ -mercaptoethanol を含む sample buffer を等量加え、4℃以下に保存し、3日以内に使用した。分離用ゲルは7.5～15%の linear gradient とし、濃縮用ゲルの部を15～20 mA constant, 分離用ゲルの部を先端の BPB が100 mm に達するまで 300 V constant で泳動した。泳動終了後直ちにゲルを取り出し、0.1% Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBB) を含む50% (W/V) トリクロル酢酸溶

液中で20分間固定染色した。その後7%酢酸で十分に脱色したゲルは、東洋濾紙 No-525 の上に乗せ、ゲル乾燥装置にて吸引加熱しフィルム状にした。

二次元電気泳動は不溶性蛋白の泳動が困難なため水溶性分画についてのみは O' Farrell の方法<sup>20)</sup>に準じて行なった。

#### 5) 脳蛋白の標識

エーテル麻酔下でラット頭頂部頭皮に小切開を加え、bregma より外側 5 mm の点とその後方 5 mm の点の2カ所に小孔を穿ち、( $U$ - $^{14}C$ ) leucine (12.2 GBq/m mol) 740～1,480 KBq を 10  $\mu$ l マイクロシリンジを用いて深さ 3 mm の部に注入した。アイソトープ注入1時間後に断頭し実験に供した。

#### 6) radioautography および fluorography

フィルムはサクラ X-Ray Film NO-Screen type N を用い、乾燥した電気泳動ゲルをフィルムに密着させ、ガラス板に挟み、20℃で30～90日間露出した。fluorography は Booner and Lasky の方法<sup>17)22)</sup>に従って行なった。

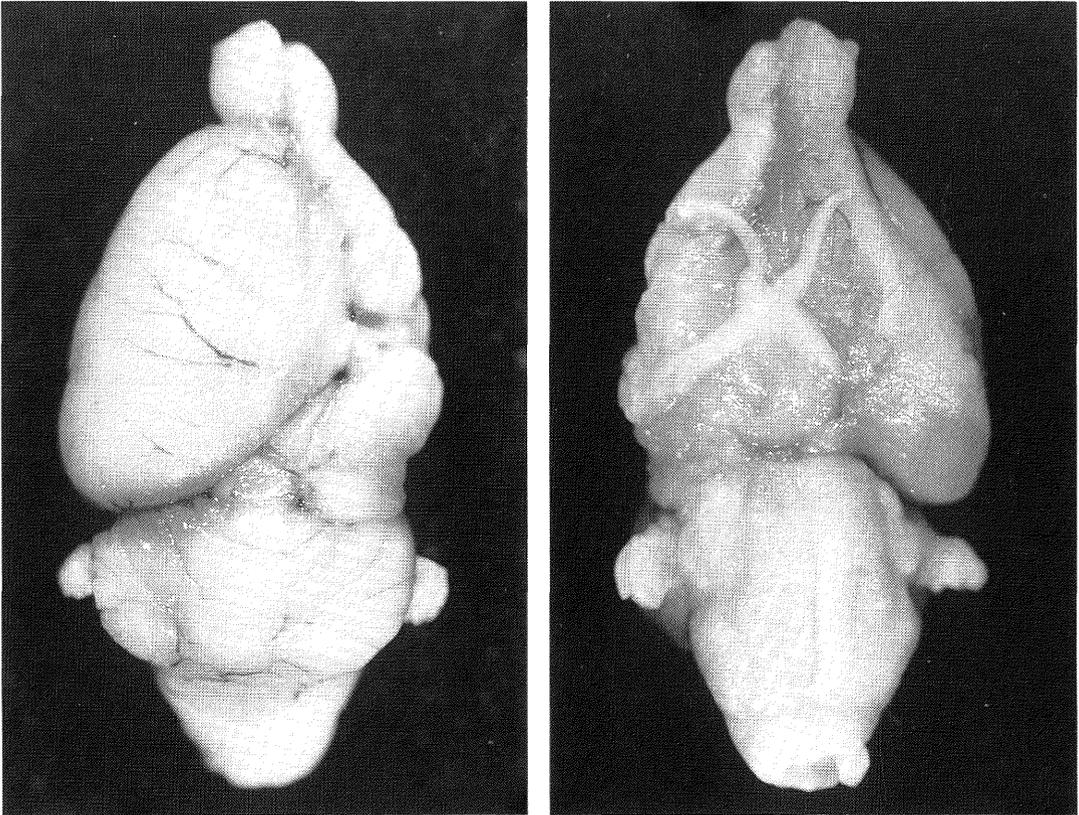


Fig. 2 The remaining brain tissue after right hemispherectomy.

7) Densitometry

Joyce-Loeble 社クロモスキャンを用いた。CBB で染色し濾紙上に乾燥したゲルは 595 nm フィルターを用い反射測定法で、radioautogram のフィルムは透過測定法にて行い両者を比較した。

8) 蛋白定量

Lowry らの方法<sup>1)</sup>を用いた。

結 果

1) 術後の麻痺と剖検所見

幼若ラット手術群では、術直後は元気が無いが、まもなく回復し特に麻痺等の出現は認めず、行動では正常対照群と区別しがたい。成熟ラット手術群では、術直後著明な片麻痺を生ずるが、摂食行動のできるもののみ生き残り、2週間程度で麻痺は改善して日常行動では障害を認めず、細い棒の上を移動するというような細かい動作において稚拙さを示すのみになる。

剖検所見では、幼若ラット手術群は外套が完全に除去されており、視床・嗅球は萎縮を示すが残存し、視床下部・外側膝状体・視神経も温存されていた。成熟ラット手術群では個々の例で除去の程度に若干の差があり、外套の内側部、前頭葉底部、後頭葉で1部残存していたが、70%以上除去されているもののみを使用した (Fig. 2)。

2) 蛋白抽出条件の検討

大脳皮質から可溶化力の差に基いて、低張緩衝液、代表的な非イオン性界面活性剤である Triton X-100、および更に強力な陰イオン性界面活性剤である Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) を用いて3段階に蛋白質を抽出した。各分画への蛋白回収率は、低張緩衝液に約30%、1% Triton X-100 に約26%、1% SDS に約42%で、最終的にはごく僅かの pellet を残し、homogenate 蛋白の98%が回収された。これら各分画を電気泳動する事により脳皮質蛋白の分析をした。超音波処理は 2A・1分を条件とし、遠心処理は 210,000 g・60分とした。

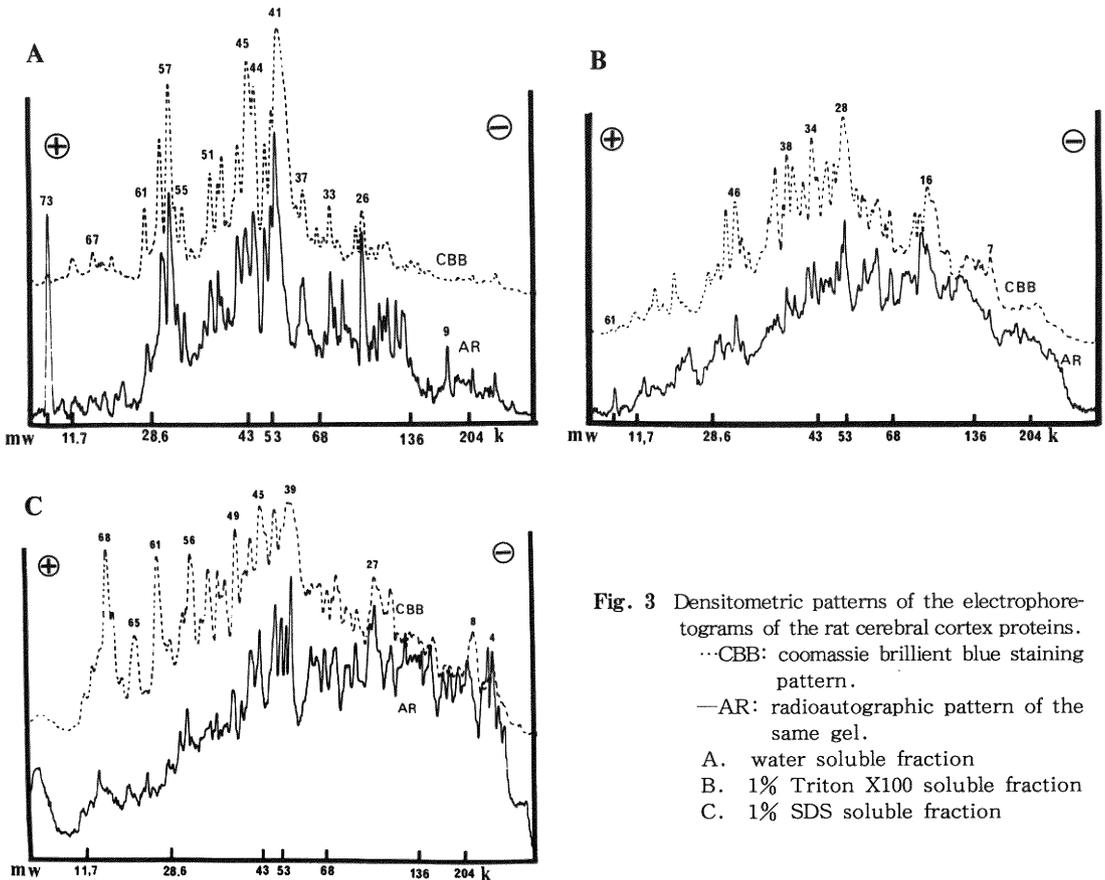


Fig. 3 Densitometric patterns of the electrophoretograms of the rat cerebral cortex proteins.  
 ---CBB: coomassie brilliant blue staining pattern.  
 —AR: radioautographic pattern of the same gel.  
 A. water soluble fraction  
 B. 1% Triton X100 soluble fraction  
 C. 1% SDS soluble fraction

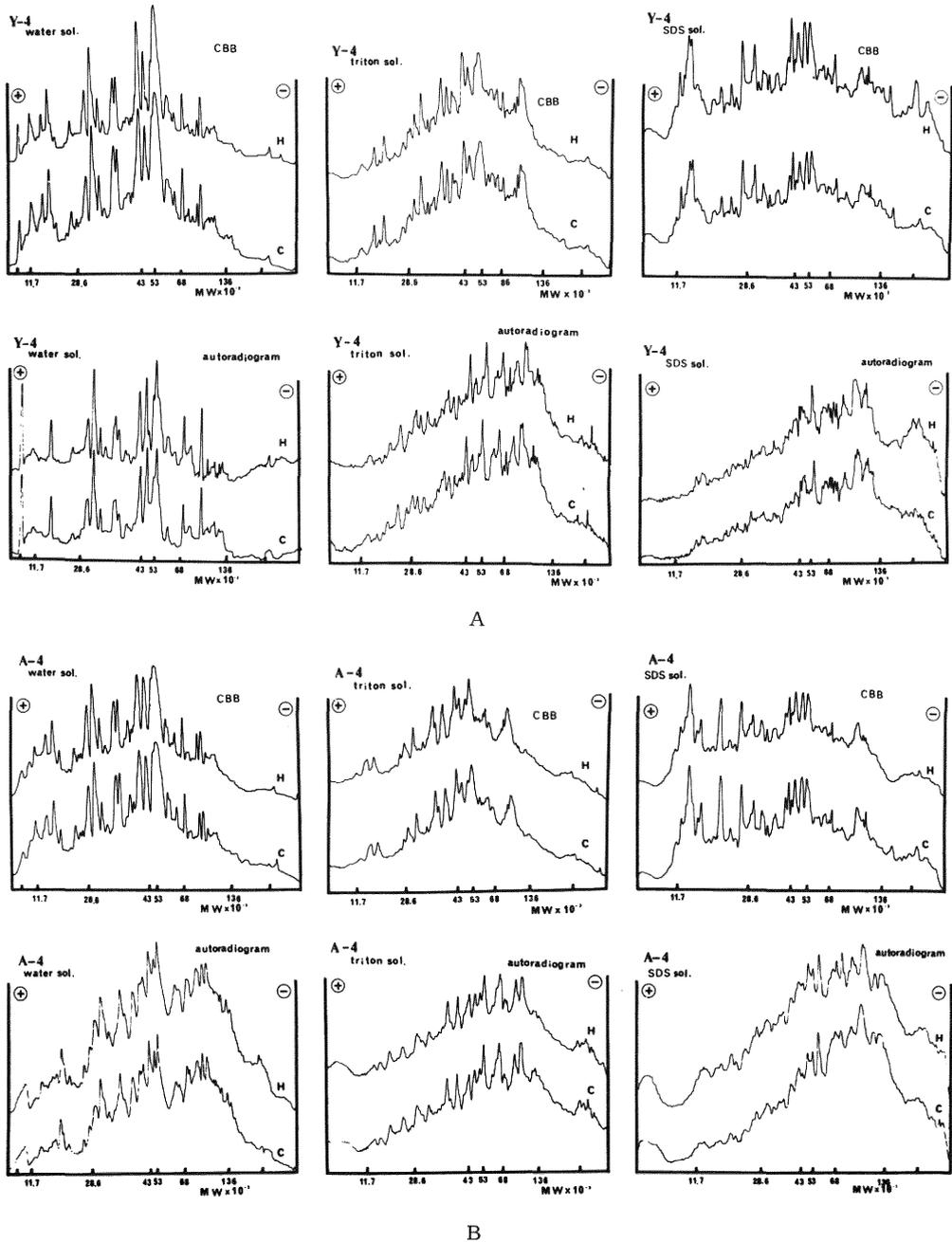


Fig. 4 大脳半球剔除後4週目における対側残存半球の各蛋白分画の電気泳動像 densitogram の比較

上段が CBB 染色パターン, 下段が radioautography パターンでの対照との比較

A: 生下時大脳半球剔除後4週目, B: 成熟ラット大脳半球剔除後4週目,

H: hemispherectomy, C: control

## 3) 電気泳動

電気泳動に乗せる蛋白量は、牛 albumin 単一 band では  $6\gamma$  まで、脳水溶性蛋白分画では  $60\gamma$  まで各 band は CBB 染色濃度と蛋白量の間で直線的相関がみられた。しかし CBB 染色では種々の蛋白の間で染色性が異なり、Lowry らの方法で測定した値と比較したとき、例えば牛 albumin を基準に取れば ovalbumin は95%、cytochrom c は70%である。すなわち CBB は現在最もよく用いられている蛋白染色用色素であるが個々の蛋白によってこの色素に対する親和性が異なることから絶対的蛋白量の比較は困難である。しかし CBB 染色という条件の下に相対的蛋白量の比較を行なった。電気泳動は Laemmli の方法<sup>11)</sup>に従い、ゲル濃度を7.5~15% linear gradient とした場合最も分離が優れており再現性もよく、この条件で脳蛋白は各分画とも均一に分離された。

対照脳各分画の電気泳動パターンにおいて乾燥したゲルでは radioautogram と合わせてみて、水溶性分画で約 70 band、Triton 可溶性分画で約 60 band、SDS 可溶性分画で約 70 band が densitogram 上で識別できた。各分画の densitogram 上検出できる蛋白ピークに便宜上高分子側より通し番号をつけた (Fig. 3)。

水溶性蛋白パターンでは、O'Farrell 法<sup>20)</sup>による二次元電気泳動パターンとも照合し、No-41 は分子量 53,000、56,000 の tubulin の  $\alpha$ ,  $\beta$  subunit が重なって1つになっているもので、No-45 は分子量 43,000 の actin に相当し、No-44 は分子量約 45,000 で Schelanski らの方法<sup>12)</sup>で牛脳蛋白から得た neurofilament 蛋白に一致する。しかしながら Schlaepfer ら<sup>27)</sup>、Lien ら<sup>29)</sup>の結果から neurofilament は 200,000、150,000、68,000 の triplet からなっており、この低分子成分は glial fibrillary acidic protein (GFAP) ないしは neurofilament の degradative product の可能性が強い<sup>31)</sup>。その他 No-9、26、27、33、58等比較的高分子領域で比放射能の高いものが多い。

Triton 可溶性蛋白では、水溶性蛋白からの若干の contamination を伴うが No-7、15、23、37、47、53 などは Triton 処理で特異的に抽出される。No-17、21 でやや isotope の取り込みが多いが全体的には相対的比活性は低い。

SDS 可溶性蛋白では、電気泳動上 No-39 が tubulin に相当し、No-67~70は histone 相当する。図からも明らかのように高分子領域で isotope の取り込みの高い蛋白が多く、比較的 turnover が速いものと思われる。

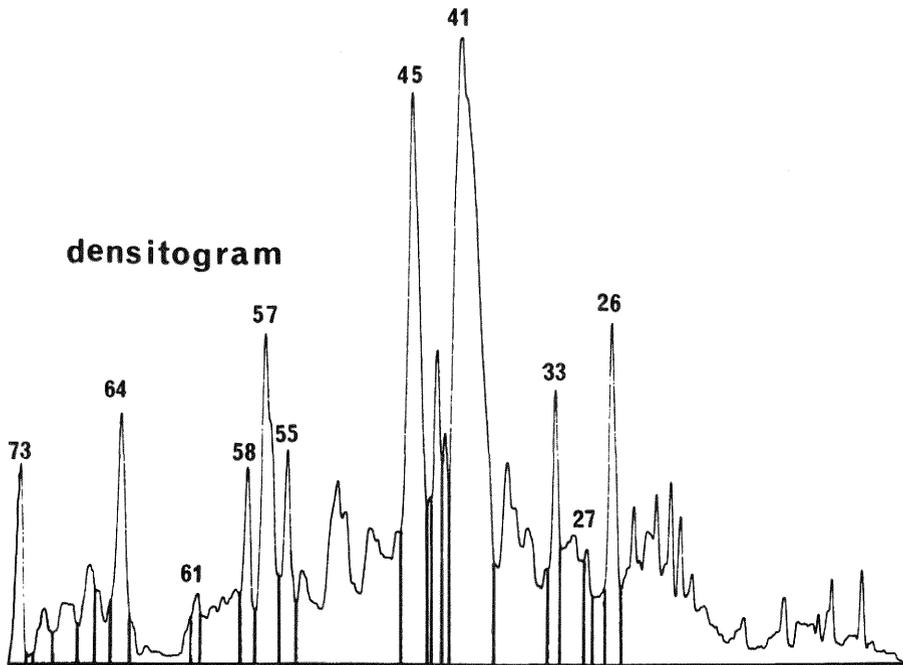


Fig. 5 Densitogram of radioautographic profile

る。一方低分子領域の No-56, 61, 65および67~70の histone は isotope の取り込みが少なく著しく turnover が遅い。

4) 脳蛋白の標識

各分画蛋白の比放射能の相対比は、水溶性蛋白を1とすれば、Triton 可溶性蛋白は1.3, SDS 可溶性蛋白は1.2となり、細胞内に取り込まれた leucine は比較的

短時間の内に不溶性の膜成分にも移行することがわかる。

乾燥ゲルによる radioautography は蛋白の  $^{14}\text{C}$  比活性が  $5\sim 8 \times 10^4$  d.p.m./mg protein のとき、 $50\gamma$  (約  $3.000$  d.p.m.) を電気泳動した乾燥ゲルを1~2ヶ月間X線フィルムに露出することにより適度な濃度のパターンが得られた。fluorography を行なうことにより露出期間を数分の1に短縮できるが、操作中に CBB 染色

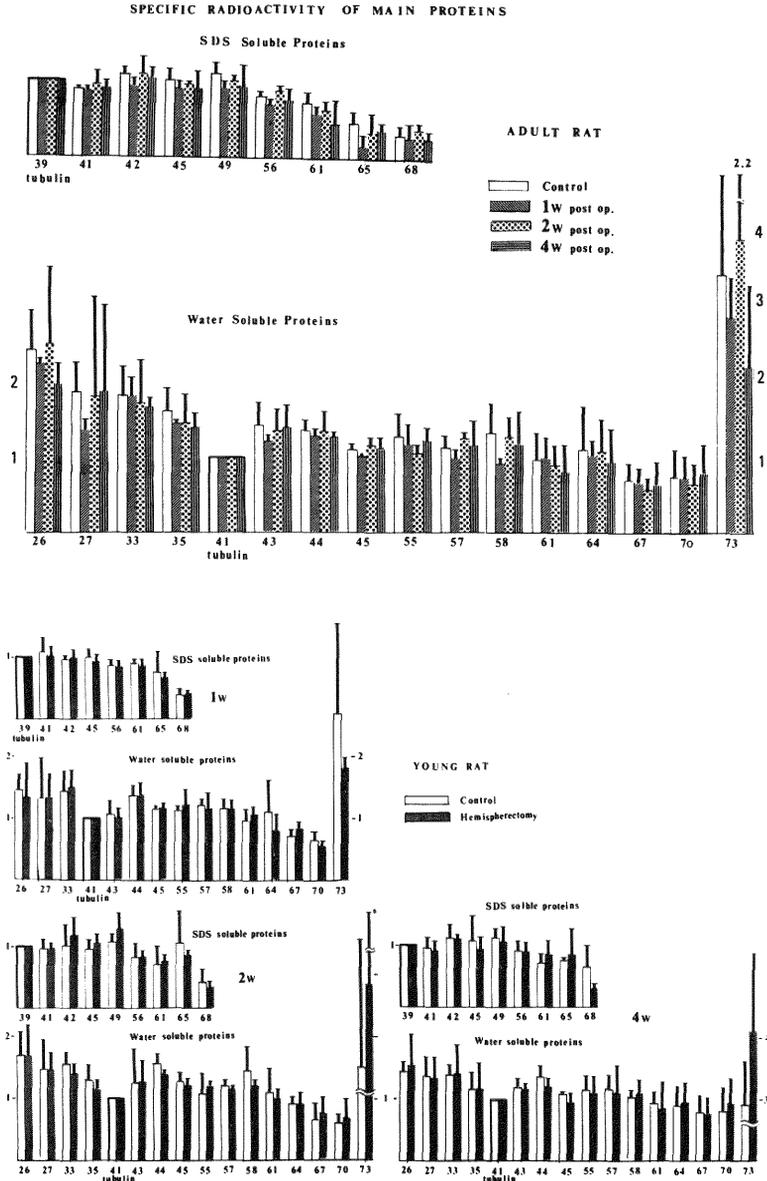


Fig. 6 Relative specific activity of main proteins.

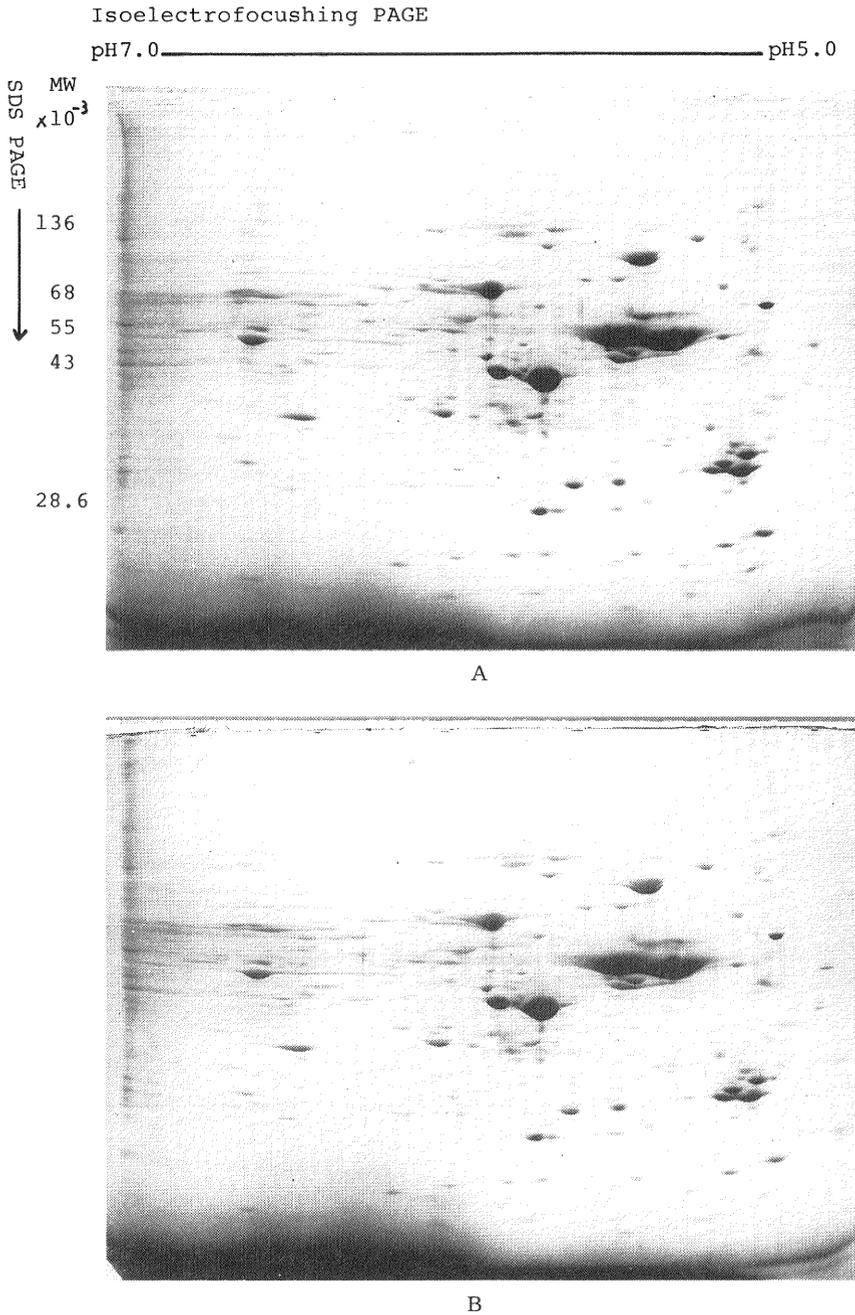


Fig. 7 ラット大脳半球皮質より抽出した水溶性蛋白の二次元電気泳動像  
A: 幼若ラット4週の対照  
B: 生下時大脳半球剔除後4週目対側残存大脳皮質

が脱色されてしまうため、代謝も含めて観察することができないという難点があり、二次元電気泳動のみに利用した。

#### 5) 大脳半球剔除群との比較

手術後4週目で、幼若ラット手術群では麻痺は見られず、正常対照群と見分けのつかない行動をし、生後3ヶ月目に半球剔除した成熟ラット手術群では麻痺が著明に改善しているので、この時期の大脳皮質各蛋白分画の電気泳動パターンを染色像と radioautogram で正常のそれらと対比させて比活性を Fig. 4 に示す。高分子領域において大脳半球剔除群と対照群との間に若干の差がみられるものもあるが、電気泳動パターンで再現性がなく蛋白抽出時に degradation などによって生ずる artifact と思われた。その他の部分でも再現性を持った変化はみ

られず、これらの電気泳動パターンの半定量的比較において大脳半球剔除後残存大脳半球皮質の蛋白には特に変化は見られないのとするのが妥当と考えた。

大脳半球剔除群における蛋白代謝の変化をより定量的にみるために、乾燥ゲルの染色パターンとその radioautogram の densitogram の各々について主なピークを各ピーク間の谷の底部から基線に垂線をおろし切り抜いて重量を測定し、各々全蛋白量に対する割合および全放射能に対する割合を出し、両者の比を取って相対的比放射能とした (Fig. 5)。Laytha<sup>25)</sup>によれば、脳における蛋白合成率は平均 0.6%/hr で half life は turnover の速いものでも 15 hr、平均10日である。したがって1時間の labeling time における相対的比放射能値はその蛋白の turnover の速さを示すといつて良い。この

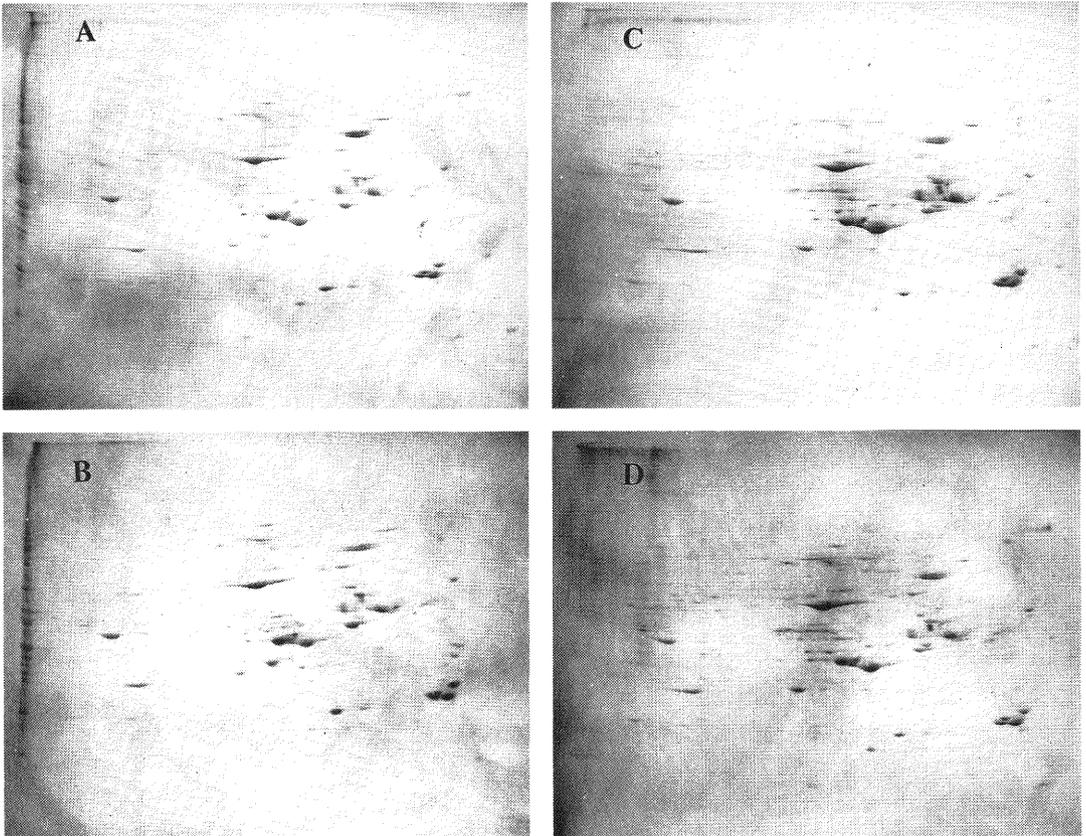


Fig. 8 Fluorographic patterns of water soluble protein.

Young A: hemispherectomy, B: control

Adult C: hemispherectomy, D: control

際 radioautogram については linear gradient gel を用いているために生じた  $\beta$ 線の自己吸収に対して補正を行なった。すなわち標識蛋白を均一に含んだ acrylamide で linear gradient gel をつくり、乾燥した後 radioautography を行い、その densitogram から補正值を算出し各ピークの値に掛けた。最終的には異なるゲル間での比較を可能とするために tubulin の相対的比放射能値を1として、他の蛋白の相対的比放射能値を算出した。

なお tubulin は大脳において半球剔除をしても優位の変化を示さない<sup>15)</sup>。測定比較し得た主な蛋白の相対的比放射能について大脳半球剔除群と対照群との間でT検定を行なったが有意差は見られなかった (Fig. 6)。

両群の水溶性蛋白に対して O'Farrell の方法<sup>20)</sup>に従って二次元電気泳動を行い比較した (Fig. 7)。しかしながら両群の間で肉眼的観察では spot の相対的な大きさと濃度において再現性のある著明な変化はみられなかった。またこの二次元電気泳動ゲルを用いて fluorography を行い両者を比較した (Fig. 8)。2~3の spot において若干 density の差が生ずるが、半球剔除した例で特に leucine の取り込みが高くなっていると思われる蛋白はみられない。

O'Farrell の方法による二次元電気泳動は分解能において従来の電気泳動に比し飛躍的な改善がみられるが、高分子蛋白の入りにくいこと、不溶性蛋白の泳動が著しく困難なこと、泳動できる蛋白等電点の pH 幅が狭い等の問題があり改良が必要である。また蛋白 spot の定量性に困難な面があり、今後代謝面での検討にはぜひ正確な定量法の開発が望まれる。

## 考 察

中枢神経系には「反射や本能行動といった型にはまった遺伝の枠内での機能」に加えて「学習や記憶、代償機能、すなわち行動を異なった状況に適応させる能力」があり、後者は神経系の可塑性 (plasticity) と呼ばれる。この可塑性は分子構造の変化も含めた特殊な形態変化と、それに関連する物質代謝に支えられているはずである。

正常脳での可塑性、特に記憶と学習については海馬におけるシナプス特にグルタミン酸受容体にかかわるシナプスの可塑性の性質について、生理学的、分子生物学的研究が著しく進んできた。しかし神経組織損傷後の機能回復に関わる可塑性の性質の本体についての報告は、主として形態学と生理学的研究によってなされている。例えば中枢神経系のある領域への求心線維の一部を切断した場合、健常線維から側枝発芽 (collateral sprouting) を

きたし、それが他の神経細胞と新しい機能的接続 (シナプス形成) を持つことは、多くの事実から明らかになってきた<sup>8)10)13)19)21)</sup>。化学的報告は少ないが Lynch ら<sup>14)</sup>は、一側の内嗅脳領を電気焼却し15日以後に同側歯状回顆粒層外側部の AchE 活性の増加を組織化学的に証明した。また Krench ら<sup>2)</sup>は、visual and somesthetic cortex を除去し、25日後に対側大脳皮質の AchE 活性の増加を見ている。Young ら<sup>18)</sup>は、猫の大脳半球剔除90日後に残存大脳半球を生化学的に検索し、homogenate、ミエリンおよび 100.000 g 上清分画の蛋白量の増加、homogenate・グリア核分画の RNA 含量の減少を見ている。

大脳半球剔除後についての化学的研究として駒井ら<sup>15)</sup>は、脳の各部位についてその組成を分析し、統計的に有意な増減の幅がいつれの物質についても少ないことを検出し、更にその中で脳幹以下でみられた cerebroside, sulfatide, cholesterol および colchitin 結合蛋白 (tubulin) 等有髓神経線維構成要素の増加が、大脳半球剔除ラットの神経系の可塑性に関わっている可能性を示唆した。また外山ら<sup>23)30)</sup>は、大脳半球剔除後の NA と 5HT の含量、AchE 活性、およびこれら神経伝達物質あるいは前駆体の粗シナプトソーム分画への取り込みを観察し、成熟ラットでは術後1~2週の早期にこれら神経伝達物質含量の減少が見られたが、長期的観察では多くは元の値に回復するかまたは更に増加することを見た。幼若ラットでは脳幹・小脳において NA 含量の増加を認め蛍光顕微鏡での観察結果と併せて NA ニューロンの側枝発芽の可能性を示唆している。

本実験では、大脳皮質蛋白を SDS アクリルアミドゲル電気泳動あるいは二次元電気泳動により分離したのち、染色および radioautography を行なって半定量的に蛋白含量の変化と代謝の変化を見ることにより大脳半球剔除群の残存大脳皮質において特異的に増加する蛋白あるいは代謝回転が速くなっているような蛋白が存在するか否かを明らかにしようと試みたが、後者すなわち存在しないであろうという結果を得た。しかしながら、分析方法に内在する限界の他に、ある特定の小さな局所でのみ変化が起こっていて微細な変化を検出できなかったという可能性はある。だが大脳の機能を考えるとき、その半球を失っているながら残存半球の蛋白質組成と代謝に本実験で用いた方法で変化が見いだせなかったということは驚くべきことと考える。またラットにおける機能回復に残存大脳半球はあまり関与せず、主に脳幹レベル以下で代償される可能性も考えられるが、現在までの定性的

実験では、脳幹、小脳、脊髄の電気泳動パターンでは大脳半球剔除群に特異的な変化はみられていない。Nakamuraら<sup>28)</sup>は split brain, 半球剔除ザルの実験から、1つの半球の処理能力は正常脳と同等であるといっているが、これだけ大きな脳損傷を受け、麻痺の改善等代償作用が見られるにも関わらず、本研究で示し得たように何等著明な蛋白代謝の変化を見いだせないことは、むしろ不思議なことと思われる。

## 結 語

中枢神経系の可塑性に関連して、ラット大脳半球剔除後の神経機能の回復・維持に残存大脳半球が関与しているとすれば、神経機能に必要な物質、特にある特定の蛋白の代謝が残存脳組織で高まるであろうという仮定のもとに、大脳半球剔除後の残存大脳半球皮質蛋白とその代謝について電気泳動および radioautography を用いて分析した。その結果、大脳半球剔除群の残存大脳皮質において特異的に増加する蛋白あるいは代謝回転の速くなっているような蛋白は見いだし得なかった。即ち、本実験によって大脳半球剔除後の著しい機能改善あるいは正常に近い神経機能の維持に、残存大脳半球での蛋白代謝の変化をほとんど必要としないことを明らかにした。

稿を終えるに当たり、御指導、御校閲をいただいた佐武 明教授に心から感謝致します。また適切な御助言、御指導をいただいた田中隆一教授ならびに竹田綜合病院脳神経外科宮澤 登先生に深謝致します。

本論文の要旨は第17回日本神経化学会(1978)にて報告した。

## 参 考 文 献

- 1) Lowry, O.H., Rosenbroug, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurements with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**: 265~275, 1951.
- 2) Krench, D., Rosenweig, M.R. and Bennet, E.L.: Interhemispheric effect of cortical lesions on brain biochemistry, *Science*, **132**: 352~353, 1960.
- 3) 桜井 建: 大脳半球剔除後の運動および知的機能について。日外会誌, **62**: 1036~1060, 1961.
- 4) 桜井 建: 大脳半球剔除後の運動および知的機能について。日外会誌, **62**: 1137~1169, 1961.
- 5) 植木幸明, 山口昭二: 大脳半球剔除後の知的機能の推移。脳神経, **16**: 752~756, 1964.
- 6) Altman, J. and Das, G.: Autoradiographic examination of the effects of enriched environment on the rate of glial multiplication in the adult rat brain, *Nature*, **204**: 1161~1163, 1964.
- 7) Diamond, M.C., Low, F., Rhodes, H., Linder, B., Rosenweig, M.R., Krech, D. and Bennet, E.L.: Increase in cortical depth and glia numbers in rats subjected to enriched environment, *J. Comp. Neurology*, **128**: 117~125, 1966.
- 8) Rosenberg, S.A. and McIntosh, J.R.: Erythrocyte menbrains: Effects of sonication, *Biochem. Biophys. Acta*, **163**: 285~289, 1968.
- 9) Glassman, E.: The biochemistry of learning: an evaluation of the rate of RNA and protein, *Ann. Rev. of Biochemistry* vol. **38** ed. by Snell, E.E., Boyer, P.D., Meister, A. and Sinscheimer, R.L., *Ann. Rev. Inc., PaloAlto*, 605~646, 1969.
- 10) Raisman, G.: Neurological plasticity in the septal nuclei of the adult rat. *Brain Res.*, **14**: 25~48, 1969.
- 11) Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins dueing the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**: 680~685, 1970.
- 12) Shelanski, M.L., Albert, S., Dvries, G.H. and Norton, W.T.: Isolation of filaments from brain. *Science*, **174**: 1242~1245, 1971.
- 13) Moor, R.Y., Bjorklund, A. and Steveni, U.: Plastic changes in the adrenergic innervation of the rat septal area in responce to denervation. *Brain Res.*, **33**: 13~35, 1971.
- 14) Lynch, G., Mathews, D.A., Mosko, S., Parks, J. and Cotman, C.: Induced acetylcholin-esterase rich layer in rat dentate gyrus following enthorhinal lesions. *Brain Res.*, **42**: 311~318, 1972.
- 15) 駒井裕一, 長野泰甫, 荒木恵子, 小林征男, 奥田正英, 佐武 明: 脳可塑性に関する生物学的および生化学的研究。神経化学, **12**: 20~23, 1973.
- 16) Raisman, G. and Field, P.M.: A quantitative investigation after partial deafferentiation of the septal nuclei. *Brain REs.*, **50**: 241~264, 1973.
- 17) Booner, W.M. and Laskey, R.A.: A film detection method for tritium-labeled proteins and

- nucleic acid in polyacrylamid gels. *Eur. J. Biochem.*, **46**: 83~88, 1974.
- 18) **Young, I.J. and Held, I.**: Cerebral protein and alternations consequent to hemispherectomy. *Neurology*, **24**: 377, 1974.
- 19) **Nakamura, Y.N., Mizuno, N., Konishi, A. and Sato, M.**: Synaptic reorganization of the red nucleus after chronic deafferetation from cerebellorubral fibers. *Brain Res.*, **82**: 298~301, 1974.
- 20) **O'Farrell, P.H.**: High resolution two dimensional electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, **250**: 4007~4021, 1975.
- 21) **Tsukahara, N., Hultborn, H., Murakami, F. and Fugito, Y.**: Electrophysiological study of formation of new synapses and collateral sprouting in red nucleus after partial denervation. *J. Neurophysiol.*, **38**: 1359~1372, 1975.
- 22) **Lasky, R.A. and Mills, A.D.**: Quantitative film detection of  $^3\text{H}$  and  $^{14}\text{C}$  in polyacrylamide gels by fluorography. *Eur. J. Biochem.*, **56**: 335~341, 1975.
- 23) 外山 孚: 大脳半球剔除ラット神経組織の生化学的变化—Neurotransmitterの動態について—。脳と神経, **28**: 1087~1094, 1976.
- 24) **Grossfeld, R.M. and Shooter, E.M.**: A study of the changes in protein composition of mouse brain during ontogenic development. An electrophoretic analysis. *J. Neurochem.*, **27**: 1163~1172, 1976.
- 25) **Laytha, A. and Dunlop, D.**: Protein metabolism in neuroendocrine tissues. In subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology, ed. by Naftlin, F., Ryan, K.J. and Davies, J., Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, : 63~80, 1976.
- 26) **Dunlop, D., Lajtha, A. and Tuth, J.**: Measuring brain protein metabolism in young and adult rats. In mechanisms, regulation and special function of protein synthesis in the brain, ed. by Roberts et al, Elsevier/North Holland Biochemical Press, : 79~96, 1977.
- 27) **Schlaepfer, W.W.**: Immunological and ultrastructural studies of neurofilament isolated from rat peripheral nerve. *J. Cell Biol.*, **74**: 226~240, 1977.
- 28) **Nakamura, R.K. and Gazzaniga, M.S.**: Hemispherectomy vs Commissurotomy in the monkey. *Exp. neurol.*, **59**: 202~208, 1978.
- 29) **Lien, R.K.H., Yen, S.H., Salamon, G.O. and Shelanski, M.L.**: Intermediate filaments in nervous tissues. *J. Cell Biol.*, **78**: 637~645, 1978.
- 30) 外山 孚, 村上直人, 亀山茂樹, 植木幸明, 佐武明: 脳可塑性の生化学的研究. 神経化学, **18**: 256~259, 1979.
- 31) **Shelanski, M.L. and Lien, R.K.H.**: Neurofilaments. *J. Neurochem.*, **33**: 5~13, 1979.

(平成4年3月9日受付)