OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Thiamine欠乏動物に関する薬理学的研究
Author(s)	西川, 殷維
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27721
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

Thiamine欠乏動物に関する

薬理学的研究

西川殷維

目　　録

緒　言 …… 1

本　論 …… 3

第1章　Thiamine 欠乏動物組織内 catecholamine 含量 …… 3

第1節　Thiamine 欠乏ラット組織内 catecholamine 含量の増加（Noradrenaline および adrenaline の分別定量） …… 5

1)　Thiamine 欠乏ラット組織内蛋白含量 …… 8

2)　Thiamine 欠乏ラット組織重量 …… 9

第2節　Thiamine 欠乏ラット組織内 serotonin 含量 …… 10

第3節　組織内 catecholamine 含量と pyruvic acid 含量の変動について …… 11

第1章の総括と考察 …… 13

小　括 …… 15

第2章　Thiamine 欠乏動物組織内 catecholamine 含量の増加機作 …… 17

第1節　Thiamine 欠乏ラットの monoamine oxidase 活性 …… 17

第2節　Thiamine 欠乏ラットの catechol－O－methyltransferase 活性 …… 20

第3節　Thiamine 欠乏ラット血液中 catecholamine 含量 …… 21

第4節　Thiamine 欠乏ラット組織内 catecholamine の合成能 …… 22

第2章の総括と考察 …… 25

小　括 …… 26

第3章　Thiamine 欠乏動物組織内 catecholamine の turnover rate の低下の生理学的意義ならびに増加した catecholamine の存在部位とその性質 …… 28
第1節　Thiamine 欠乏ラットの血圧 …… 28
第2節　Thiamine 欠乏ラットの心拍数 …… 31
第3節　Reserpine , tyramine , dl－amphetamine 投与による catecholamine の変動と behavior …… 34
第4節　Thiamine 欠乏ラットの insulin shock 抵抗性 …… 39
第3章の総括と考察 …… 42
小　括 …… 46

第4章　遊離型 thiamine からエステル型 thiamine への促進因子について …… 48
第1節　Thiamine 欠乏ラット組織内 thiamine 含量 …… 48
第2節　Insulin の作用 …… 51
第3節　Tyramine , dl－amphetamine の作用 …… 53
第4章の総括と考察 …… 56
小　括 …… 59

第5章　Insulin の組織内 catecholamine の turnover rate 促進作用 …… 61
第5章の総括と考察 …… 65
小　括 …… 67

結　論 …… 69

参考文献 …… 70

緒　　言

1897年Eijkman[1]がニワトリを白米食で飼育すると多発性神経炎をおこすことを認め、以来、vitamin B₁（thiamine）に関する栄養学、生化学ならびに衛生化学的研究は長足の進歩をとげた。Thiamineの生体内における役割については、これが生体内でピロ燐酸エステルとなり、いわゆるdecarboxylaseの補酵素として、ピルビン酸やα－ケトグルタル酸の脱炭酸に関与しているほか、五炭糖燐酸サイクルにおいて、transketolaseの補酵素としての役割が知られている。しかしthiamine欠乏症に関しては，thiamineの補酵素としての役割の欠如であるという見解の域を脱しなかった。Thiamine欠乏により起る多発性神経炎、脚気、自律神経障害並びに運動神経障害を、この補酵素としての作用のみからでは説明することが出来ない。

1945年 von Muralt[2,3]はthiamine が補酵素としての役割以外に、末梢神経ならびにおそらくは中枢神経系において、神経の刺激伝達機構に何らかの役割を演じていることを示唆し、その後これを支持する研究が二、三なされた。[4-7]が前述の欠乏時の症状との関連性はなお不明である。

Thiamine 欠乏に関する薬理学的な研究は、ほとんど進展をみず、上述の神経伝達における役割以外に、thiamineとacetylcholineとの関係ならびにcholinergic機能との関連性について行なわれたが[8-11]その生化学的レベルにおける明確な相互関係は確認されていない。一方thiamineのadrenergic機能における役割については、[12]ほとんど研究報告がない。

1965年岩田[13]はthiamine が神経系において果す役割を解明すべく実験を行ない、thiamine 欠乏動物の摘出心臓のtyramine に対する感受性が増強されていることを認めた。このことに端を発し、各組織内のcatecholamine(CA）を定量したところ、大脳皮質、心房、心室、脾臓等の臓器内において著るしく増加していることを認めた。

これらのことから著者は、thiamineが神経系とくに交感神経系で果す役割をその代謝機能との関連において解明せんとして本研究に着手した。

本　　論

第1章　Thiamine欠乏動物組織内 Catecolamine 含量

実 験 動 物 作 成

実験動物として、体重80～100gのSprague－Dawley系雄性ラットを用いた。Thiamine欠乏合成飼料として第1表のごとき組成を用いた。欠乏飼料1Kgにつき3mgのthiamine HClを添加して飼育した対照群と、thiamine添加飼料の摂食量を制限し、欠乏群と同じ体重曲線を描かせたpair－fed (calorie restricted)群を作成した。飼育にあたっては、動物を別々に飼育し、食糞によるthiamineの摂取を避けた。

Table 1.

Thiamine deficient basal diet for rat

Vitamin free casein	20 g
Soy bean oil	9
Cod liver oil	1
McCullum's salt	4
Sucrose	64.6
Vitamin solution	1 ml
Choline chloride	0.1g
DL-Methionine	0.3

Vitamin solution

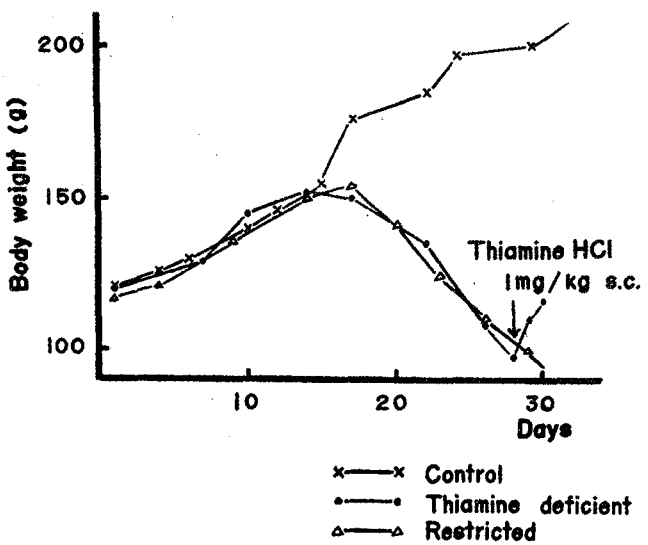
	mg		mg
Riboflavin	40	Calcium pantothenate	400
Pyridoxine HCl	30	Inositol	1000
Cyanocobalamin	3	p-Aminobenzoic acid	1000
Ascorbic acid	2000	Folic acid	20
Menadione	50	Biotin	4
Nicotinic acid	400		

50% ethanol ad 100 ml

Thiamine 欠乏の指標として、著者は、ラット徐脈の発現とその進展について検討した結果、対照群の７０％以下に減少しはじめると、その後の減少が比較的確実に進行することから、この点を指標とし、以下の実験に thiamine 欠乏群として用いた。

なおこの合成 thiamine 欠乏飼料で飼育した場合、体重は飼育開始後１２日目頃までは対照群と変りなく増加するが、その後は増加の停止に引続き減少しはじめ、末期になると１日の体重減少は１０ｇ以上におよぶ。その間、運動量の減少、体重減少、立毛、徐脈、痙攣、振顫、旋回などの症状を伴った重症の多発性神経炎が起る。飼育開始後４週末または５週目に死の転帰をとる（第１図）。

Fig. 1. **Body weight during thiamine deficient feeding**



第一節　Thiamine欠乏ラット組織内 Catecholamine含量の増加 (Noradrenalineおよび adrenaline の分別定量)

CA は生体内の各臓器に広く分布し、哺乳動物では、adrenalin (A) は主として副腎髄質に、noradrenaline (NA) は副腎髄質のほか交感神経支配臓器に多く分布されており、副腎髄質では分泌ホルモンとして、また交感神経支配臓器では神経末端での刺激伝達物質として、それぞれ生理的に重要な役割を果していることはよく知られている。そこでthiamine欠乏で増加したCA がNA であるか、A であるかを検討すべくCA の分別定量を行なった。

実験材料および方法

実験は、thiamine欠乏群、対照群、pair fed群の3群に分けて行なった。動物を断頭し、0.4N の$KClO_4$ で homogenize し、全液をビーカーに取り、一夜アイス・ストッカー内で凍結させた。凍結後融解させ、組織内のCA を抽出した。CA の定量は、Croutら[14]の方法に従い、CA をKCO_3でアルミナに吸着させ (pH 8.2－8.4)、0.2M CH_3COOH で溶出して精製し、この精製抽出液で、酸化法[15]によるNAと Aの分別定量ならびにフイルター法[16]による分別定量を行なった。

酸化法によるNAとAの分別定量は試験管〔A〕にsample 1 ml と1M acetate buffer (pH 3.5) を2 ml、試験管〔B〕に1M acetate buffer (pH 6.0) を2 ml 加え正確に3分後、ascorbic acidを20％NaOH溶液に0.2％の濃度に溶解したものを添加し、trihydroxyindoleとなし[17]、NAとAを螢光定量した。励起波長405 mμ、螢光波長515 mμ で得られた試験管〔A〕と試験管〔B〕の測定値より、次式に従ってNA 含量ならびにA含量を算出した。

計　算　式

$$NA=\frac{a(A-B)}{100-n}$$

$$A=\frac{a(B-F)}{100m}-\frac{n\cdot y}{100m}$$

A：pH 6.0の螢光光度計の読み

B：pH 3.5の螢光光度計の読み

F：エキス・ブランクの螢光光度計の読み

a：用いたAのμg

m：A／NA の螢光強度の比率

n：pH 3.5で酸化されたNAの比率

フィルター法による分別定量は、sample 1mlに1M acetate buffer (pH 6.0)2mlを加え、前述と同じ方法でtrihydroxyindoleとし[17]、励起波長に375$m\mu$と402$m\mu$を、螢光波長には537$m\mu$を選んで、次の計算によりNA とAの分別定量を行なった。

計　算　式

$$X+Y=F$$

$$V_2/V_1\cdot X+W_2/W_1\cdot Y=f$$

F　：励起波長375$m\mu$で測定した螢光値

f　：励起波長402$m\mu$で測定した螢光値

V_1　：Aを375$m\mu$で測定した螢光値

V_2　：Aを402$m\mu$で測定した螢光値

W_1　：NAを375$m\mu$で測定した螢光値

W_2　：NAを402$m\mu$で測定した螢光値

X　：混合液中のAの螢光値

Y：混合液中のＮＡの螢光値

酸化法ならびにフィルター法で得られたＮＡ、Ａ量を平均することによりＮＡ、Ａ含量を分別定量した。

実　験　成　績

Thiamine 欠乏動物ならびに対照動物組織内ＮＡ量およびＡ量を第２表に示す。第２表から明らかなように、thiamine 欠乏で増加したＣＡは全組織内において、主としてＮＡであり、心房、心室においては、ＮＡの増加とともにＡの増加も認められた。また対照群、欠乏群ともに、大脳皮質、脳幹、脾臓等の臓器においては、ＮＡのみが存在し、Ａは検出されなかった。次いで、thiamine 欠乏動物に 4 mg／Kg の thiamine HCl を皮下投与し、5時間後にＮＡ、Ａを測定したが、未処置欠乏群とほとんど同じ含量を示し、正常値への回復はみられなかった。

Tabelle 2. Katecholamingehalt in Geweben von Ratten unter Thiaminmangel (μg/g)

		Kontrolle[a]		Thiaminmangelfutter		Thiamininjektion[b]	
		Noradrenalin	Adrenalin	Noradrenalin	Adrenalin	Noradrenalin	Adrenalin
Herz	Vorhof	1,31 ± 0,14 (7)	0,39 ± 0,19 (7)	2,65 ± 0,37 (6)[c]	0,43 ± 0,17 (6)	2,49 ± 0,46 (5)	0,48 ± 0,19 (
	Ventrikel	0,21 ± 0,09 (7)	0,07 ± 0,02 (7)	0,51 ± 0,15 (6)[c]	0,29 ± 0,14 (6)[c]	0,48 ± 0,19 (6)	0,26 ± 0,11 (
Gehirn	Rinde	0,26 ± 0,04 (7)	0	0,49 ± 0,07 (5)[c]	0	0,47 ± 0,09 (5)	0
	Stamm	0,58 ± 0,09 (7)	0	0,64 ± 0,09 (5)	0	0,65 ± 0,11 (5)	0
Nebenniere		508,7 ± 49,3 (7)	62,37 ± 5,95 (7)	517,6 ± 44,7 (5)	69,85 ± 7,85 (5)	509,4 ± 67,2 (5)	59,9 ± 6,85 (5
Milz		0,40 ± 0,03 (7)	0	1,21 ± 0,13 (5)[c]	0	1,23 ± 0,12 (5)	0

[a] 3 mg Thiamin-HCl in 1 kg Thiaminmangel-Grundfutter. [b] Thiamin-HCl 4 mg/kg s.c. [c] Signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe ($P < 0,05$). Ziffer: Mittelwert ± mittlerer Fehler. Anzahl der Gruppen in Klammern. Pro Gruppe 3–4 Ratten.

1） Thiamine 欠乏ラット組織内蛋白含量

Thiamine欠乏ラット上記新鮮組織 g あたりのCA（NAおよびA）含量は著明に増加することが認められたが、更に組織蛋白あたりのCA 含量についても検討すべく実験を行なった。

実験材料および方法

組織蛋白の定量は、組織の homogenate を1NのNaOHで加熱溶解し、Lowry ら[18]の方法により測定した。

実　験　成　績

Thiamine 欠乏動物の組織蛋白含量は、対照群のそれに比較して、肝臓において増加がみられたが、他の全ての組織において、有意な変化は認めなかった（第3表）。

Table 3. **Protein contents in tissues of thiamine deficient rat**

(μg/g)

	Heart		Brain		Adrenal gland	Spleen	Liver
	Atrium	Ventricle	Stem	Cortex			
Control	0.14 ±0.03 (5)	0.24 ±0.06 (5)	0.15 ±0.04 (5)	0.17 ±0.02 (5)	0.14 ±0.01 (5)	0.24 ±0.06 (5)	0.15 ±0.01 (5)
Thiamine deficient	0.17 ±0.06 (5)	0.26 ±0.03 (5)	0.13 ±0.02 (5)	0.16 ±0.02 (5)	0.20 ±0.03 (5)	0.28 ±0.05 (4)	0.30* ±0.04 (5)

*P<0.01 when compared with control value.

The values are mean ±S.E..

Number of groups are in parenthesis.

2） Thiamine 欠乏ラットの組織重量

欠乏群の組織 g あたりのCA 含量の増加は、組織重量の減少に起因するとも考えられることから、組織重量を測定した。

実験材料および方法

欠乏群、対照群、ならびにpair fed群を断頭し、出来るだけ血液を多く出し、後すみやかに臓器を摘出し、更に血液成分を組織から取り除き、秤量した。

実　験　成　績

欠乏群の各臓器重量を測定すると、脾臓の場合、重量が対照群に比し、著明な減少を示し、pair fed群の脾臓においても、欠乏群同様、著るしい重量の減少を示した。欠乏群の臓器重量の減少は脾臓のほか、睾丸においても著明であり、pair fed群においては、脾臓の他、肝臓および睾丸において重量の減少が認められた（第4表）。

Table 4. **Weights of tissues in the thiamine deficient rat** (g)

	Heart	Brain	Adrenal gland	Spleen	Liver	Kidney	Testis
Control*	0.71 ±0.02 (7)	1.42 ±0.02 (7)	0.025 ±0.003 (7)	0.76 ±0.09 (7)	6.87 ±0.38 (5)	0.65 ±0.01 (5)	1.06 ±0.03 (5)
Thiamine deficient	0.58 ±0.05 (7)	1.38 ±0.05 (7)	0.025 ±0.004 (7)	0.26 ±0.06 (7)	7.02 ±0.32 (5)	0.69 ±0.04 (5)	0.66 ±0.05 (5)
Restricted	0.45 ±0.02 (7)	1.27 ±0.04 (7)	0.013 ±0.001 (7)	0.26 ±0.07 (7)	3.56 ±0.58 (5)	0.63 ±0.11 (5)	0.84 ±0.15 (5)

*3mg of thiamine HCl in 1kg of thiamine deficient basal diet

The values are mean ±s.e..

Number of rats are in parenthesis.

第二節　Thiamine欠乏ラット組織内 serotonin 含量

Thiamine欠乏で組織内に著名にCAが増加することを認めたが、CAとともに生体アミンであり、同じ分解酵素系を持つserotonin含量についても検討を加えた。

実験材料および方法

対照群ならびに欠乏群を断頭し、すみやかに臓器を摘出し、組織内 serotonin含量をBogdanski ら[19]の方法ならびにUdenfriend ら[20]の方法に従い以下の順に定量した。

組織1～2 g を2倍量の0.1NHClでhomogenizeし、無水炭酸ソーダを加えてpHを10とし、5 ml のborate buffer (pH10)および水を加えて総量を15 ml とし、この溶液に食塩7 gおよびn－butanol 20 mlを加え振盪遠沈し、後水層を除く。有機層を15 mlの borate buffer と振盪遠沈し、butanol 層10 ml を他の共栓付遠沈管にうつす。これに15 mlのn－heptane および2.5 ml の0.1 NHClを加え振盪遠沈する。水層2 mlを取り、これにconc.HCl 0.8 mlを加え、直ちに295 mμの励起波長、550 mμ の螢光波長で螢光強度を測定した。

実　験　成　績

Thiamine欠乏動物のserotonin含量は、大脳皮質、脳幹においては、CAの場合と比較すると、軽度ではあるが増加することが、また脾臓の場合は、CAの場合と同様、著明に増加することが認められた。一方欠乏群の小腸においいては逆に減少することが認められた (第5表)。

Table 5.

Serotonin content in tissues of thiamine deficient rat
(μg/g) or (μg/ml)

	Control	Thiamine deficient
Brain cortex	0.25 ± 0.03	0.33 ± 0.04
Brain stem	0.51 ± 0.04	0.70 ± 0.07
Spleen	1.77 ± 0.18	3.88 ± 0.41
Small intestine	4.13 ± 0.29	2.99 ± 0.27
Blood	1.11 ± 0.19	0.88 ± 0.07

第三節　組織内 Catecholamine 含量と pyruvic acid 含量の変動について

Thiamine欠乏では、cocarboxylaseとしての作用減弱の結果、組織内でのpyruvic acid の異常蓄積が考えられる。Thiamine欠乏でみられたCAの著名な増加と組織内pyruvic acid の変動との間に何らかの関係がある可能性も考えられることから、欠乏群の組織内pyruvic acid 含量ならびに対照ラットにpyruvic acid を長期間連続投与した際のCA含量を測定し、組織内CA含量とpyruvic acid 含量の変動について検討を加えた。

実験材料および方法

1. 組織内pyruvic acid の定量

動物を断頭後、直ちに脳、心臓、脾臓、肝臓を摘出し、脳は大脳皮質、脳幹、小脳に分け、氷冷下、蒸留水でhomogenate とし、10％メタ燐酸を加え、煮沸水浴中に7分間放置し、除蛋白する。この上清に2, 4−dinitrophenylhydrazine を加え抽出 pyruvic acid をhydrazone 化した後、ethylacetate で抽出し、下層を除き、上層に同量のligroineを加えた後、0.1 N Na_2CO_3 で抽出転溶し、上層を除き同量の2 N NaOH を加えて生じる赤色を417 $m\mu$ で比色定量した。

2. 組織内CAの定量

組織内CAの定量は、組織内のCA を第一節で述べた方法で抽出し、Croutら[14]の方法に従い、CA を K_2CO_3 でアルミナに吸着させ、0.2M CH_3COOH で溶出精製し、この精製液をEulerら[17]のフェリシアン化カリウム酸化（pH 6.3）によるtrihydroxyindole法で測定した。

実験成績

Thiamine欠乏動物のpyruvic acid 含量は、第6表に示すごとく、対照群と比較して、小脳、心臓 肝臓、脾臓においては著明な増加が認められた。また欠乏動物に4.0 mg／Kg の thiamine HCl を皮下投与すると、脾臓を除く全ての組織において、5時間後には正常値に回復していた（第6表）。また欠乏動物でのCAの著明な蓄積は、組織内pyruvic acid の異常蓄積によるものとも考えられることから、対照動物に sodium pyruvate（300 mg／Kg）を1日2回、30日間連続腹腔内に投与し組織内のCA 含量を測定した。Sodium pyruvate 処置動物の脳幹、心室、脾臓等の臓器において減少し、さらに副腎においては著明に減少していた（第7表）。

'abel le 6. Brenztraubensauregehalt in Geweben von Ratten unter Thiaminmangel ($\mu g/g$)

		Kontrolle[a]	Thiaminmangelfutter	Thiamininjektion[b]
:lerz	Ventrikel	17,28 ± 3,67 (7)	26,37 ± 0,84 (7)[c]	18,91 ± 1,86 (7)[d]
Gehirn	Rinde	7,82 ± 0,61 (4)	9,93 ± 1,06 (4)[c]	8,35 ± 0,72 (5)[d]
	Stamm	11,24 ± 0,83 (4)	14,26 ± 1,20 (4)	10,56 ± 1.92 (5)
	Kleinhirn	10,25 ± 2,38 (4)	15,96 ± 2,38 (4)[c]	11,96 ± 0,94 (5)[d]
Milz		20,93 ± 1,57 (5)	33,98 ± 4,79 (5)[c]	45,29 ± 8,65 (5)[c,d]
Leber		14,65 ± 1,95 (5)	24,39 ± 1,90 (5)[c]	16,95 ± 2,16 (5)[d]

[a] 3 mg Thiamin-HCl in 1 kg Thiaminmangel-Grundfutter. [b] Thiamin-HCl 4 mg/kg s.c. [c] Signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe ($P < 0,05$). [d] Signifikanter Unterschied zur Thiaminmangelfutter-Gruppe ($P < 0,05$). Ziffer: Mittelwert ± mittlerer Fehler. Anzahl der Gruppen in Klammern.

Table 7.

Catecholamine content in tissues of control rat treated with sodium pyruvate (μg/g)

	Control	PyA-Na
Brain cortex	0.26 ± 0.04	0.26 ± 0.07
Brain stem	0.58 ± 0.09	0.42 ± 0.04
Heart atrium	1.31 ± 0.14	1.55 ± 0.15
Heart ventricle	0.34 ± 0.12	0.21 ± 0.03
Spleen	0.40 ± 0.03	0.22 ± 0.04
Adrenal gland	582.3 ± 62.8	381.1 ± 31.0

Sodium pyruvate : 300mg/kgx60/30 days i.p.

第 1 章 の 総 括 と 考 察

さきに岩田[13]が認めた thiamine 欠乏動物の大脳皮質、心房、心室、脾臓等の臓器において増加したＣＡがＮＡであるかＡであるかを検討すべくＣＡの

分別定量を行なった結果、thiamine欠乏で増加したCAは主としてNAであった。また心房、心室においては、NAの増加とともにAの増加も認められた。

この組織9あたりのCAの増加は、組織内蛋白あたりについてもあてはまることを明確にした。次に臓器重量との関係について検討を加える目的で各臓器重量を測定した。脾臓の場合、欠乏群では、対照群に比し、著るしく減少しており臓器あたりのCA量には差異を認めることが出来ない。しかしながら、pair fed 群の脾臓は欠乏群と同様著明な重量の減少を示しており、しかもpair fed 群の臓器あたりのCA量はほとんど変化していないことから、thiamin 欠乏により脾臓においても増加するものと考えられる。他の臓器においては、pair fed 群において、組織重量あたりのCA量は増加を示さないので、thiamine 欠乏による各臓器内のCA含量の増加は、食餌摂食量の減少による臓器の萎縮によるものではないとすることが出来る。Thiamine欠乏とCAの関係について、Hertting[19]は、著者の研究以後、thiamine欠乏の鳩を用いて検討を加え、脳部位ならびに心臓において組織重量あたりのCA量が増加することを追加報告している。

Thiamine欠乏症状と生体内代謝との関連については、現在まで炭水化物の代謝を中心に数多く研究されて来た。Thiamine欠乏動物においてはde-carboxylaseの補酵素の欠如のため炭水化物代謝に障害がおこり、血中にpyruvic acid ならびに lactic acidが増加することが認められた。以後thiamine欠乏と pyruvic acid との関係について二三研究がなされた。[20,21] Dejong[22]は鳩の多発神経炎と pyruvic acidとの関係について実験を行なったが明確な解答を得ないまゝに終っている。これらのことからthiamine欠乏でみられたCAの増加と組織内 pyruvic acid の関係を検討すべく欠乏動物の組織内 pyruvic acid 含量を測定した。第三節で述べたごとく大脳皮質、小脳、脾臓、肝臓等の臓器において増加がみられたが、欠乏群に4 mg／Kgのthiamineを皮下投与するとpyruvic acid 含量は5時間後にはすで

に正常値に回復した。しかしながらＣＡ含量は同処置、同時間では全く回復する傾向が認められなかった。このことと sodium pyruvateを長時間連続投与した際には、逆に組織内ＣＡ含量が減少することを考え合わせると、thiamine欠乏でみられるＣＡの増加は、pyruvic acid の異常蓄積に直接起因するものではないと推測出来る。なお sodium pyruvateの連続投与により組織内のＣＡ含量に減少がみられたが、この減少がストレスに起因するものか、あるいは pyruvic acid の代謝にＣＡが重要な役割を果し、その結果に起因するものかは、今後より詳細に検討を加える必要がある。

小　　括

1）　Thiamine欠乏ラットの大脳皮質、心房、心室、脾臓等の臓器においては、著明にＮＡ含量が増加し、心房、心室においてはＮＡの増加とともにＡの増加も認められた。

2）　Thiamine欠乏ラットの組織 g あたりの蛋白含量は、肝臓において軽度の増加が、他の組織においては、対照群との間にほとんど変化が認められなかった。

3）　Thiamine欠乏ラットの大脳皮質、脳幹、ならびに脾臓においてsero－tonin 含量が増加することを認め、小腸では逆に減少することを認めた。

4）　Thiamine欠乏ラットの大脳皮質、小脳、脾臓、肝臓等の臓器においてpyruvic acid が増加しており、4 mg/Kg の thiamine HCl 投与により脾臓を除く各組織において、5時間後には回復した。

5）　Thiamine欠乏ラットの各臓器に増加したＣＡは、4 mg/Kg の thiamine HCl 投与5時間後においては、高値のままであった。

6) 対照動物にsodium pyruvate(300 mg／Kg)を1日2回、30日間連続腹腔内に投与すると、脳幹、心室、脾臓、副腎等の臓器においてCA含量が減少した。

第 2 章　Thiamine 欠乏動物組織内 Catecholamineの含量の増加機作

組織内のＣＡは tyrosineから生合成され、神経細胞内の末端部に存在する顆粒成分の中に貯えられ、一部は細胞画分の可溶性画分中にも貯えられることが知られている。ＣＡの分解にはmonoamine oxidase（MAO）と catechol-O-methyltransferase（COMT）[23-27]ならびに抱合[28]が主役を演じている。細胞内ＣＡについては、ＣＡそのものが組織に取り込まれその大部分が細胞内顆粒と結合し、神経刺激により遊離する、いわゆるＣＡの取り込み(uptake)と遊離（release)のあることも知られている。

前章において、thiamine欠乏ラットにおいてＣＡが著明に増加することを述べたが、このＣＡの増加機作ならびに thiamine欠乏でのＣＡの代謝パターンを解明するため以下の実験を行なった。

第一節　Thiamine 欠乏ラットの monoamine oxidase 活性

Thiamine欠乏動物におけるＣＡ増加の原因を知る目的で、まず、細胞内のCAを分解し、その含量を規制している[29]と考えられているＭＡＯ活性の変化について検討を加えた。

実験材料および方法

1. ＭＡＯ活性の測定

ＭＡＯ活性の測定は、Cotzias ら[30]の方法に準じたTokawa ら[31]の変法に従い、対照群ならびに欠乏群の摘出臓器を５倍量の 0.9％ＫＣｌ溶液で

homogenizeし、この組織homogenateに0.1 M phosphate buffer (PH 7.4)を用い、基質として3×10^{-3} MのNAを使用し、37℃で1時間インキュベートし、その間に発生するアンモニアを測定することにより求めた。

2. 組織内CAの測定

組織内CAの測定は前章第三節と同じ方法で行なった。

実　験　成　績

Thiamine欠乏動物のMAO活性は、第8表に示すように、心房、心室、脾臓等の臓器において有意に低下していることが認められた。

Thiamine欠乏動物に4 mg/Kgのthiamine HCl を皮下注射し、5時間後の酵素活性を測定すると、全組織において、何ら影響なく、正常レベルへの回復は認められなかった。1 mg/Kgのthiamine HClを1日2回、2日間皮下投与するとthiamine欠乏で低下した酵素活性は正常値に回復した。(第8表)。

Thiamine欠乏で低下するMAO活性とpyruvic acidとの関係を検討するため前章第3節に記したごとく、対照動物に300 mg/Kgのsodium pyruvateを1日2回、30日間連続投与したが、本酵素活性の低下はみられなかった。また組織homogenateに1×10^{-4} Mのpyruvic acidをin vitroに添加した場合においても何ら変動を認めることが出来なかった。

Thiamine欠乏で低下した本酵素活性が、thiamineの2日間投与により回復することから、本酵素の補酵素としてthiamineが関与する可能性も考えられ、thiamine (1×10^{-4} M)ならびにthiamine pyrophosphate (1×10^{-4} M)を、欠乏動物の組織homogenateにin vitroに加えて測定したが、本酵素活性の回復を認めることが出来なかった。

また、thiamine 欠乏で著明に増加したCAは、4 mg／Kg の thiamine HCl の皮下投与5時間後では正常への回復を認めなかったが、1 mg／Kg の thiamine HCl の2日間の皮下投与により、上述のMAO活性の回復と平行してCA含量も正常に回復することを認めた（第9表）。

Table 8. *Monoamine oxidase activities* (μmol/g h^{-1}) *by homogenates of the tissues of control and thiamine-deficient rats with noradrenaline as substrate*

Tissue	Control (5)	Thiamine deficient (5)	Thiamine deficient †Thiamine (4·0 mg/kg)	Thiamine deficient ‡Thiamine (1·0 mg/kg × 4)
Cerebral cortex	4·85 ± 0·61	4·80 ± 0·57	4·93 ± 0·81 (5)	4·80 ± 0·75 (5)
Brain stem	5·09 ± 0·59	4·98 ± 0·59	5·50 ± 0·73 (6)	5·37 ± 0·52 (6)
Heart atrium	5·32 ± 0·58	3·69 ± 0·52*	3·60 ± 0·55*(6)	4·99 ± 0·51**(7)
ventricle	4·09 ± 0·32	2·90 ± 0·33*	3·14 ± 0·44*(6)	4·30 ± 0·54**(6)
Spleen	4·68 ± 0·59	3·01 ± 0·51*	3·01 ± 0·59*(6)	4·66 ± 0·53**(5)
Liver	8·32 ± 1·01	8·25 ± 0·99	8·31 ± 0·92 (5)	8·72 ± 1·09 (5)

The values are mean ± s.e. Figure in brackets refer to number of experiments.
† Thiamine (4·0 mg/kg): In these experiments, 4·0 mg/kg thiamine was injected subcutaneously 5 h before the animals were killed.
‡ Thiamine (1·0 mg/kg × 4/2 days): 1·0 mg/kg thiamine was injected subcutaneously every 12 h for 2 days and 12 h after the last injection the animals were killed.
* Significant difference from control group ($P<0·05$).
** Significant difference from thiamine-deficient group ($P<0·05$).

Table 9. *Catecholamine content* (μg/g) *in tissues of thiamine-deficient rats treated with thiamine*

Tissue	Control¶	Thiamine deficient	Thiamine deficient † thiamine (4·0 mg/kg)	Thiamine deficient ‡ thiamine (1·0 mg/kg)
Cerebral cortex	0·26 ± 0·04 (4)	0·52 ± 0·09*(5)	0·43 ± 0·05*(4)	0·38 ± 0·06**(5)
Brain stem	0·58 ± 0·09 (4)	0·63 ± 0·10 (5)	0·60 ± 0·07 (5)	0·60 ± 0·15 (5)
Heart: atrium	1·31 ± 0·14 (6)	2·60 ± 0·39*(5)	2·50 ± 0·31*(5)	2·02 ± 0·35**(4)
ventricle	0·34 ± 0·12 (3)	0·94 ± 0·12*(5)	0·81 ± 0·10*(5)	0·41 ± 0·06**(4)
Spleen	0·40 ± 0·03 (6)	1·95 ± 0·15*(4)	1·67 ± 0·12*(6)	0·86 ± 0·20**(5)
Adrenal gland	1063·0 ± 107·9 (6)	1107·7 ± 155·0 (5)	1110·3 ± 121·9 (6)	1079·7 ± 74·0 (5)

* Significant difference from control group ($P<0·05$).
** Significant difference from thiamine-deficient group ($P<0·05$).
Value: Mean ± s.e., Each group: 3–4 rats, Number of groups are in parentheses.
†‡ See footnotes to Table 1.
¶ The data are those previously reported (Iwata & others, 1968).

第二節　Thiamine欠乏ラットの Catechol-O-methyl transferase 活性

Thiamine欠乏ラットのMAO活性に低下が認められたことを前節で述べたが、細胞内から循環中に放出されたCAの代謝分解に関与する[24]と考えられている肝COMT活性についても検討を加えた。

実験材料および方法

Thiamine欠乏群ならびに対照群の肝臓を8倍量の0.9%KClでhomogenateとし、12,000g×30min.，遠沈後その上清を酵素溶液として用いた。反応液の組成としては、70μgのNA、5.2moleの$MgCl_2$ 210$m\mu$mole のS-adenosyl methionine、70μmoleの phosphate buffer (pH7.8)、0.25mlの酵素溶液を用い、終末溶量を1ml とし、37℃で1時間incubateし、生成したnormetanephrineを定量しCOMT 活性を測定した。なお、生成したnormetanephrine の分離精製は、谷口ら[32]の方法に従って、Dowex－50のカラムに吸着させ、0.01Nのアンモニアで溶出し精製した。この溶出液を$KClO_4$で脱O-methyl化してNAとし、以下は前章第三節に記したごとくtrihydroxyindole法によりNA量を測定し、normetanephrine量に換算することによって本酵素活性を測定した。

実　験　成　績

Thiamine欠乏ラットの肝臓のCOMT活性は13.98μg／g 新鮮組織／hr.で、対照群のCOMT活性　14.23μg／g 新鮮組織／hr. と比較して

有意な変動を認めなかった。

第三節　Thiamine欠乏ラット血液中ＣＡ含量

一般に交感神経の刺激によって神経末端からは主としてＮＡが、内臓神経の刺激によって副腎からＡおよびＮＡが血液中に遊離することが知られている。[33] Thiamine欠乏状態での循環中へのＣＡの遊離の様子を検討するため血液中のＣＡ量を測定し、併せてＣＡの増加機作をうかがおうとした。

実験材料および方法

Thiamine欠乏ラット、対照ラットならびにpair fedラットを断頭し、血液を0.4 NのKClO$_4$を入れた容器にとり、アイス・ストッカー内に一夜放置し、後これを室温で融解させる。融解後この容器をはげしく振盪し血液成分の除蛋白を完全にし、ＣＡを抽出する。抽出したＣＡを前章と同じCroutら[14]の方法に従いアルミナのカラムを通過させ精製する。精製したＣＡの溶出液をさらにDowex−1のカラムで受け、さらに精製し、この液をsampleとして、trihydroxyindole法により血液中のＣＡを測定した。

Dowex−1の精製：市販のDowex 1（x8，type1，Cl型）をカラムにつめ5倍量の2 NのNaOH，10倍量の水、5倍量の2 Nの酢酸、10倍量の水といった順序でカラムに通し、Dowex− 1を精製しかつ酢酸型にした。

実　験　成　績

欠乏ラットの血中ＣＡ量は、第１０表に示すごとく、対照群の半量にまで減少していた。また、pair fed群においても軽度の減少が認められた。なお、

血液中のＣＡは三群とも主としてＮＡであった。

Table 10.

Blood catecholamine content of thiamine deficient rats

	Catecholamine content (μg/ml)	P[c]
Control[a]	0.030 ± 0.002 (5)	< 0.01
Thiamine deficient	0.015 ± 0.001 (4)	
Pair-fed[b]	0.025 ± 0.003 (4)	< 0.05

[a] Fed on the thiamine deficient basal diet supplemented with 3 mg thiamine hydrochloride per kg. [b] Given daily an amount of control diet of the same weight as that eaten by the deficient group. [c] Significant P values in relation to the thiamine deficient group. Four rats were used in each experiment and the values represent the mean ± S.E. of the number of experiments shown in parenthesis.

第四節　Thiamine 欠乏ラット組織内 Catecholamine の合成能

ＣＡの増加機作をさらに詳細に検討するため、ＣＡ合成能を、ＭＡＯ inhibitor であるCatron（ＪＢ－５１６）を投与し、この間にみられる組織内ＣＡの蓄積量より測定することにした。

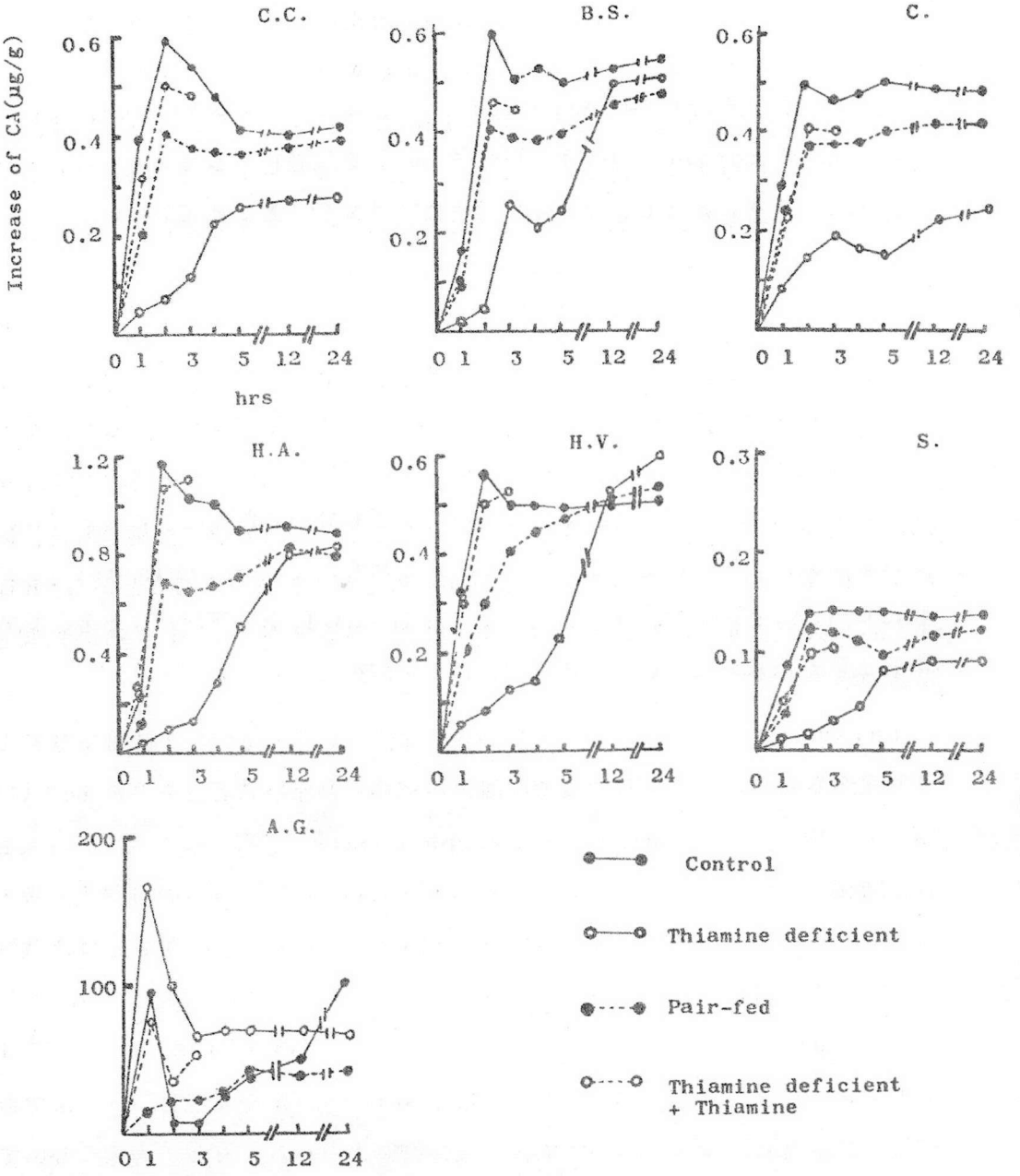
実験材料および方法

欠乏群、対照群ならびにpair fed 群に、10㎎／㎏のCatron(β－phenyl－isopropylhydrazine HCl；JB－516) を腹腔内に投与し、1,2,3,4,5,12,24時間後に断頭し、第1章で述べた方法でCA量を測定した。

実験成績

第2図に示すごとく、Catron投与後のCA含量の増加は、thiamine欠乏ラットの大脳皮質、脳幹、小脳、心房、心室等の臓器で、対照群ならびにpair fed群に比べて著名に低く、、thiamine欠乏動物のこれら臓器においては、CAの合成能が著名に低下していることが認められた。一方thiamine欠乏動物にCatronと同時に、4㎎／㎏のthiamineHClを皮下注射すると、CAの合成能が全組織においてほぼ正常値にまで回復した。

Fig. 2. Effect of thiamine on catecholamine increase in tissues of thiamine deficient rat



C.C.; Cerebral cortex, B.S.; Brain stem, C.; Cerebellum, H.A.; Heart atrium, H.V.; Heart ventricle, S. ; Spleen, A.G.; Adrenal gland

第２章の総括と考察

Thiamine 欠乏動物のＣＡの増加がみられた組織においてＭＡＯ活性の抑制が認められ、また thiamine 投与によりＣＡの回復と時間的に平行してMAO活性も回復することから、thiamine 欠乏での組織内ＣＡの増加は、ある程度、ＭＡＯ活性の抑制に起因していることが推測出来る。このことは、MAO活性は、中枢神経系ならびに末梢組織でＣＡの遊離を調節し、その含量を規制するという報告[29]と一致し興味ある事実である。

一方、欠乏群の肝臓のＣＯＭＴ活性は、対照群と比較して、変化が認められないにかかわらず血中ＣＡ量が半量にまで減少していることから、ＣＡの循環中への遊離が thiamine 欠乏により著るしく阻害されていることがうかがえる。Thiamine 欠乏動物では、組織内のＣＡ含量が増加するにかかわらずCAの合成能が低下しており、さらにＣＡの遊離ならびに分解が抑制された、いわゆるＣＡの turnover rate の低下が認められた。これらのことからthiamine 欠乏でみられるＣＡの増加は、組織内から循環中への遊離の抑制とＭＡＯ活性の低下に起因するといえる。

Thiamine 欠乏でのＭＡＯ活性の低下は、thiamine の２日間投与により回復がみられるが、５時間後では回復が認められないことならびに in vitro に thiamine, thiamine pyrophosphate を添加した際にも酵素活性の回復がなかったことを考慮すると、thiamine をＭＡＯの補酵素と考えるよりはむしろ、本酵素活性の低下は、thiamine 欠乏という２次的な代謝障害によると考えた方が妥当であろう。

Thiamine 欠乏ラットのＭＡＯ活性については、１９６１年、Gal ら[34]はミトコンドリア画分を用いて、基質として serotonin を使用し、検圧法で測定し、全脳ならびに小腸においては軽度の抑制がみられ、肝臓、脾臓においては変化が認められないことを報告している。しかしながら、本酵素の基質が多様性であることが知られており、測定方法ならびに用いる基質がことなれば活

性に差異が生ずることは当然考えられる。

血液中のＣＡについては、含量が少なく、精製の際に、アルミナからＣＡがdopa，3,4－dioxymandelic acid，3,4-dioxyphenyl acetic acidとともに溶出され、これらが螢光測定値を妨害することが考えられるのでアルミナカラムの他に更にDowex-1を用いて精製した。更に血液成分がＣＡと結合し、また血小板もＣＡと結合することが報告されている[35]ので、血球を完全に破壊し、除蛋白を完全に行ない得るように血液を0.4 NのKClO$_4$で凍結し、融解後はげしく振盪してＣＡの抽出に細心の注意を払った。なお小動物の血中ＣＡの定量に関する報告はこれが最初である。

ＭＡＯ阻害剤を用いて、ＣＡの蓄積量より、合成能を検討した実験は、すでにUdenfriendら[36]やSpectorら[37]によってなされ、１９６８年には、Kulkarniら[38]が同じ方法で幼若ラットの中枢神経系のＣＡの合成能が成熟ラットに比べて低いことを報告している。本実験においては、thiamine欠乏ラットの脾臓ならびに副腎を除く各組織においてＣＡの合成能が低下していることを認めた。Thiamine欠乏では、Catronの細胞膜透過性、吸収、ならびにその効果発現に相違のあることも考えられることから、kynuramineを基質に用いて本酵素活性を測定したが、Catron投与１５分後にはすでに欠乏群、対照群ともにほぼ完全に阻害（９０％～１００％）されることを確認している。[39]

小　　括

1) Thiamine欠乏ラットのＭＡＯ活性は、心房、心室、脾臓等の臓器において低下していることが認められた。

2) Thiamine欠乏ラットに1 mg/Kgのthiamine HClを１日２回、２日間投与すると、低下した酵素活性は正常値に回復した。

3) ３００mg/Kgのsodium pyruvateを対照ラットに、１日２回、３０日間連続腹腔内に投与したが、ＭＡＯ活性には変動がなかった。

4) 対照ラットの組織 homogenate に、1×10^{-4} M の pyruvic acid を添加した場合も変動がなかった。

5) Thiamine 欠乏ラットの組織 homogenate に、1×10^{-4} M の thiamine HCl ならびに 1×10^{-4} M の thiamine pyrophosphate HCl を添加したが、MAO活性の回復を認めなかった。

6) Thiamine 欠乏ラットの肝臓のCOMT活性は、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

7) Thiamine 欠乏ラット血液中CA量は15 ng/ml で、対照群の血中CA量（30 ng/ml の半量に減少していた。

8) Thiamine 欠乏ラットの大脳皮質、脳幹、小脳、心房、心室等の臓器内のCAの合成能は著るしく低下していることが認められた。

9) Thiamine 欠乏ラットに、4 mg/Kg の thiamine を皮下注射すると、1時間後にはCAの合成能が著明に改善された。

第 3 章　Thiamine 欠乏動物組織内 Catecholamineのturnover rateの低下の生理学的意義ならびに増加したCatecholamine の存在部位とその性質

ＣＡは哺乳動物の中枢神経系に広く分布し、ある種のneuronの神経伝達物質として機能を営んでいる可能性があり、末梢神経系ならびに副腎においては、第１章で記述したごとく交感神経系の刺激伝達物質および分泌ホルモンとして、内臓神経の刺激、あるいは、ある種の刺激により遊離されることが知られている。

一方、生体内に投与したＣＡは直接血管に作用し、末梢血管を収縮させ、また心臓に作用しては、その収縮力ならびに心拍数を増加させ血圧を上昇させる。更にまた、交感神経支配の平滑筋においては、ある種の刺激により神経末端からＣＡが遊離され、受容体（α－receptor，β－receptor等）に作用して収縮または弛緩させることが明確にされている。[40－43] またその間にみられる生化学的な変化は、細胞膜でのＫイオンあるいはＣａイオンの動態に影響を与え、[44－47] 更に糖代謝ならびに脂質代謝にも大きな影響を与え[48－49] 生体の機能を調節している。

第２章において、thiamine 欠乏では、組織内のＣＡのturnoverが低下していることを述べたが、このような状態にある時、生理的には如何なる症状が現われるか、更にはthiamine 欠乏で増加したＣＡの存在部位とその性質について検討を加えた。

第一節　Thiamine 欠乏ラットの血圧

第１章ならびに第２章で、thiamine 欠乏動物では組織内のＣＡのturn－

over が遅く、また血中のＣＡ量が低下していることを述べた。このような時、血圧がどのような状態にあるかを検討した。

実験材料および方法

血圧の測定は、欠乏群、対照群、pair fed 群に、urethane 0.6 g/Kg を腹腔内投与し、0.6 g/Kg を皮下投与して麻酔した。カニューレを右大頸脈に挿入し、水銀マノメータを介して煤紙上に描記した。また血液中のＣＡの定量は前章で記した方法で行なった。

実　験　成　績

Thiamine 欠乏動物の平均血圧値は、第11表に示すごとく、95 mm Hg で、対照群の120 mm Hg に比較して著明に低下していることが認められた。Pair fed 群の血圧は、対照群と同程度であった。Thiamine 欠乏動物に4 mg/Kg の thiamine HCl を皮下注射し、投与後、1, 3, 5 時間後に血圧を測定すると、1時間後においてすでに回復がみられ、3～5時間後には、正常値にまで回復することが認められた。同処置をした動物を断頭し、血液中のＣＡ量を測定すると、血圧の変動と密接に関連し、血圧の低い thiamine 欠乏動物では血中ＣＡ含量も低下しており、また4 mg/Kg の thiamine 投与による血圧の回復と平行して、血中ＣＡ量も回復することが認められた。

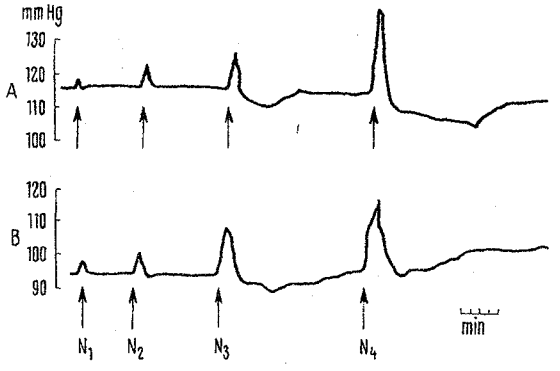
欠乏動物、対照動物の大腿静脈より、tyramine ならびにＮＡを投与し、これら薬物に対する感受性について検討を加えたが、第3図に示すごとく、対照群との間に差異を認めることが出来なかった。また欠乏動物への tyramine の反復投与により、血圧の基線が対照群の値にまで上昇することが認められた。Thiamine 欠乏動物に1 mg/Kg の tyramine を腹腔内に投与し、2時間後に血中のCA量を測定すると、35 ng/ml と対照群の値にまで上昇した。

Table 11

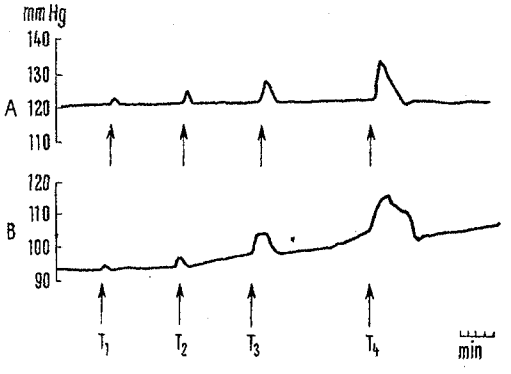
Relationship between catecholamine content in blood and blood pressure

	Catecholamine content (μg/ml)	Blood pressure (mmHg)
Control	0.030	120
Thiamine deficient (heart rate 330)	0.015	95
Thiamine deficient (〃 410)	0.020	112
Thiamine deficient (〃 330) + Thiamine (4.0 mg/kg, s.c.)	0.020	105
Pair-fed	0.025	109

Fig. 3.



Blood pressure of carotid artery of thiamine deficient rat and effect of DL-noradrenaline on it. N_1, N_2, N_3, N_4 (DL-noradrenaline hydrochloride 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 μg/kg, respectively). (A) Control rat, (B) thiamine deficient rat. Anesthesia was done with 1.2 g/kg i.p. of urethane. Drugs were given into femoral vein.



Blood pressure of carotid artery of thiamine deficient rat and effect of tyramine on it. T_1, T_2, T_3, T_4 (tyramine monohydrochloride 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 mg/kg, respectively). Other conditions are the same as in Figure 1.

第二節　Thiamine欠乏動物の心拍数

Thiamine欠乏動物が心拍数の減少（徐脈）を示すことは、すでに1929年Carterら[50]が報告している。その後、この徐脈の成因を追求すべく数多くの研究がなされた。Peterら[51,52]はTCA－cycleの抑制剤であるfluoro-citrateをラットの蜘蛛膜下腔に注射することにより徐脈を惹起せしめることを認め、TCA－cycleの代謝回転と関係のあることを報告している。著者もこの徐脈の発現を解明すべく2，3の検討を加えた。

実験材料および方法

動物を飼育時と同じ、恒温（20±4℃）、恒湿（50±10%）の部屋で、無麻酔、無拘束で心拍数を心電計を用いて測定した。

CAの合成能は、第2章、第四節で述べた方法で測定した。

実　験　成　績

心拍数が対照群の70%以下に減少したthiamine欠乏動物に、4 mg/Kgのthiamine HClを皮下注射すると、注射後15分から遅くとも3時間以内に対照群あるいは正常群（市販固型飼料で飼育した動物）のレベルにまで回復することを認めた（第12表）。

Table 12　Thiamine 欠乏ダイコクネズミ拍動数の変化

Normal	Basal diet thiamine*	Thiamine deficient		Restricted
		Before thiamine	After thiamine** 3 hrs	
451 ±11(10)	496 ±11(10)	321 ±4(10)	482 ±11(10)	419 ±33(10)

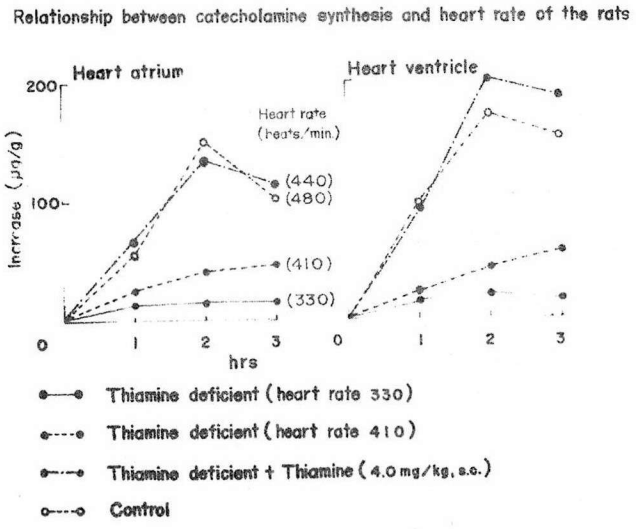
Mean ± S.E.

*: Thiamine 欠乏合成飼料 1kg に thiamine HCl 3mg を添加
**: Thiamine HCl 1mg/kg 皮下注射．（ ）内は動物数
Restricted: Pair feeding

第２章でthiamine欠乏動物のＣＡのturnoverが遅く、また、thiamine投与によりこのturnoverが急速に回復することを述べた。そこでこの心拍数の変動とＣＡのturnoverとの関係について検討を加えた。

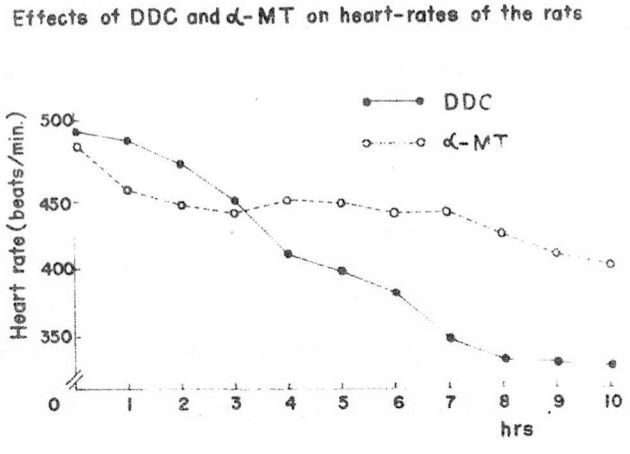
心拍数３１０ beats/min.および４１０ beats/min.のthiamine欠乏動物の心房、心室のＣＡの合成能は、第４図に示すごとく著明に低下しており、心拍数が３１０の心房、心室のＣＡ合成能は、心拍数４１０の軽度のthiamine欠乏動物のそれに比し、より著明に低下していた。また、thiamine欠乏動物に、４ mg/Kgのthiamine HCℓを皮下注射し、著明に心拍数が増加し、対照群の値にまで回復した（心拍数が３３０から４４０ならびに４８０に回復）動物の心房、心室のＣＡ合成能も著明に上昇し、ＣＡの合成能と心拍数とは密接な関係にあることが認められた（第４図）。

Ｆｉｇ．４.



このようにthiamine欠乏動物の心拍数とCAのturnoverとは密接な関係にあることから、対照動物においてもCAのturnoverを低下させると心拍数も減少するのではないかと考え、対照動物にCAの合成酵素であるtyrosine hydroxylase　の阻害剤であるα－MT（α－methyl－p－tyrosine）を300mg/Kgを腹腔内に、またdopamine－β－oxidase阻害剤であるDDC（sobium diethyl dithiocarbamate）　200mg/Kgを2時間毎に4回投与し、心拍数を測定した。第5図に示すごとく、これらCAの合成阻害剤を投与することにより、心拍数が著明に減少することが認められた。

Fig.　5.



DDC：Sodium diethyldithiocarbamate（800mg/kg.i.p.）
α-MT：α-Methyl-p-tyrosine（300mg/kg.i.p.）

第三節　Reserpine, tyramine, dl-amphet-amine 投与による Catecholamine の変動と behavior

前節においてCAの turnover と心拍数とは密接な関係にあることを述べたが、thiamine欠乏動物においては、CAの turnover の減少と組織内CAの増加がみられる。この増加したCAを作用機作の異なるCA releaser により人為的にCAを放出させ、CAの turnover を変化させた場合の心拍数の変動ならびに behavior について検討を加えた。

実験材料および方法

心拍数の測定は前節に記した方法で、また組織内CAは前述の trihydroxy-indole 法により測定した。また、reserpineは20%の ascorbic acid に溶解し、dl-amphetamine sulfate, tyramine HCl は0.9%の生理食塩水に溶解して用いた。なお、reserpineは皮下に tyramine, amphetamineは腹腔内に投与した。

実験成績

対照ラットならびに pair fed ラットに1 mg/Kg の reserpine を皮下投与すると、2時間後には、自発運動の減退、鎮静に引き続き体温の降下、呼吸抑制、外来の刺激に対する無関心、眼瞼下垂、昏睡、下痢等が著明に現われた。しかしながら thiamine欠乏動物に同量の reserpine を投与した場合、5時間後においても自発運動の軽度な抑制が観察される程度で、外来の刺激に対しても反応を示し、上述の諸種反応はほとんど観察されなかった。対照群ならびに pair fed 群に50 mg/Kg の amphetamine を投与すると、30分後に

は運動量の増加、興奮、眼瞼突出が観察された。一方、thiamine 欠乏動物に同量の amphetamine を投与した場合には、これら諸種症状が対照群に比し、より著明に現われた。

対照群、pair fed 群に 10 mg/Kg の tyramine を投与した場合、両群とも外観上の behavior の変動はほとんど観察されなかった。一方、thiamine 欠乏動物に同量の tyramine を投与した場合は、amphetamine 投与によりみられるような興奮状態は全く観察されなかったが、投与2時間後には、運動量の増加、食慾増加がみられ、振顫、旋回、痙攣等も一部改善された。

上述と同量の reserpine ならびに tyramine を投与した場合の心拍数を第6図に示す。

対照群ならびに pair fed 群に reserpine を投与すると、その心拍数は著明に減少するが、thiamine 欠乏群では、ほとんど認められなかった。一方、tyramine を投与した場合には、thiamine 欠乏では、reserpine の場合とは逆に、心拍数の著明な増加がみられ、投与2時間後においては、400 beats/min. にまで増加することが認められた。しかしながら、対照群、pair fed 群においては、この心拍数の増加作用はほとんど認めることが出来なかった。

Fig. 6.

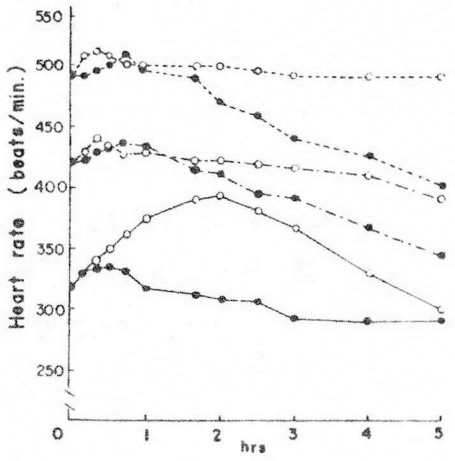


Fig. 1. Effects of reserpine and tyramine on the heart rate of thiamine-deficient rats. Ordinate: Heart rate (beats/min). Abscissa: Time after injection of drugs. (---) control. (——) thiamine-deficient. (—·—) pair-fed. (—○—) tyramine (10 mg/kg). (—●—) reserpine (1mg/kg). Each value represents the mean of 6 experiments.

次に、これらCA releaserを用いた場合のCA含量の変動について検討を加えた。

対照群ならびにthiamine欠乏群に1㎎/㎏のreserpineを投与し、5，12，24時間後に各組織内のCA含量を測定した。Reserpine投与後のCA含量を第7図に示す。薬物投与5時間後においては、CAの遊離量は欠乏群と対照群の間に差異はほとんど認められなかった。すなわち、thiamine欠乏群では、薬物投与後の組織内残存CA含量が高く、12時間後においても脳幹、心房においては残存CA含量が多かった。また、投与12時間後においては、大脳皮質、小脳、心室、脾臓等の臓器において、thiamine欠乏動物と対照動物とは同じ含量を示した。副腎においては、投与12時間後では、欠乏動物の方がより著明に遊離された。

Fig. 7.

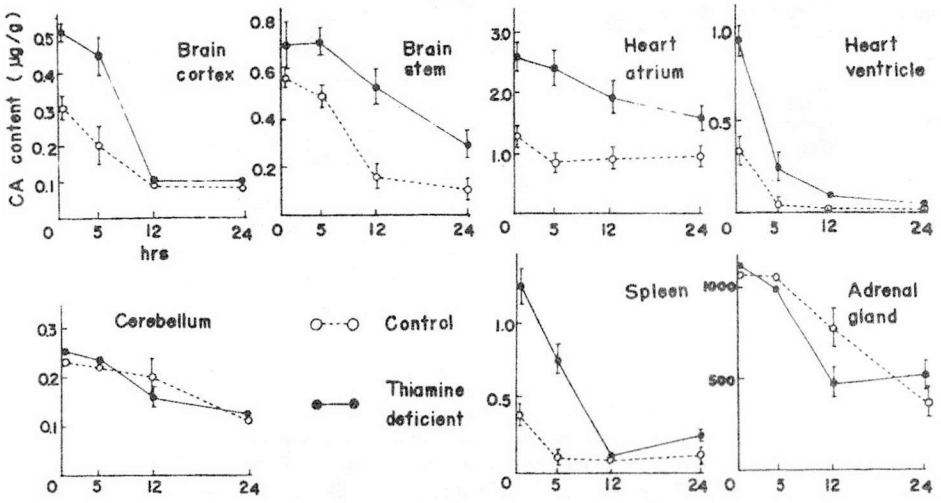


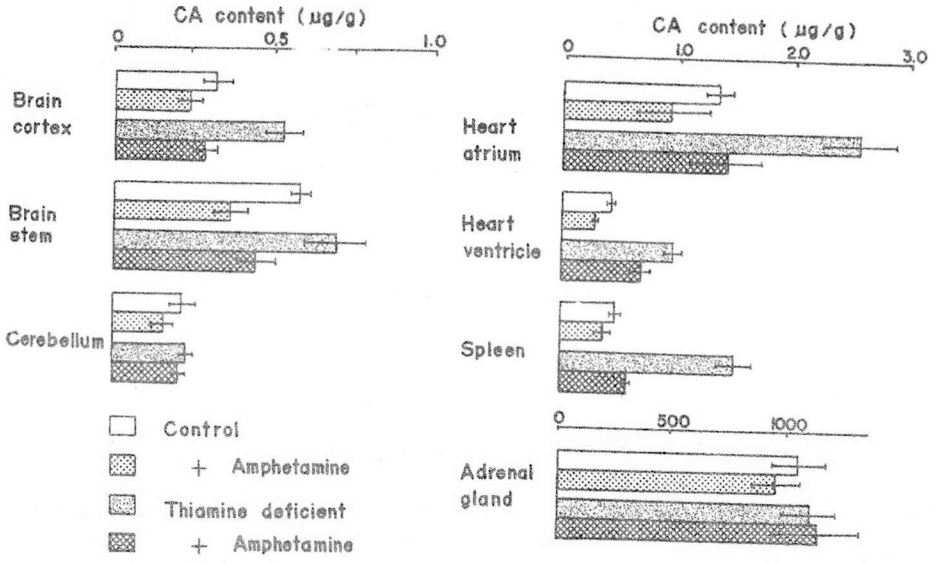
Fig. 2. Effects of reserpine on the catecholamine levels in various tissues of thiamine-deficient rats. Catecholamine content 5, 12 and 24 hours after subcutaneous injection of reserpine 1 mg/kg. Ordinate: Catecholamine content (μg/g). Abscissa: Time after injection of reserpine. The values are the means ± standard errors.

対照動物ならびに欠乏動物に上述と同量のamphetamineあるいはtyramineを投与し、5時間後の組織内CA含量を第8図、および第9図に示した。

対照動物にamphetamineを投与して5時間後に組織内CA含量を測定すると、大脳皮質、脳幹ならびに心房、心室において軽度にCAが減少した。一方、thiamine欠乏動物に同量のamphetamineを投与した場合は、thiamine欠乏で著明に増加していた大脳皮質、心房、心室、脾臓等のCA含量が減少し、対照群の値、あるいは、対照群にamphetamineを投与した場合と同量にまで減少した。

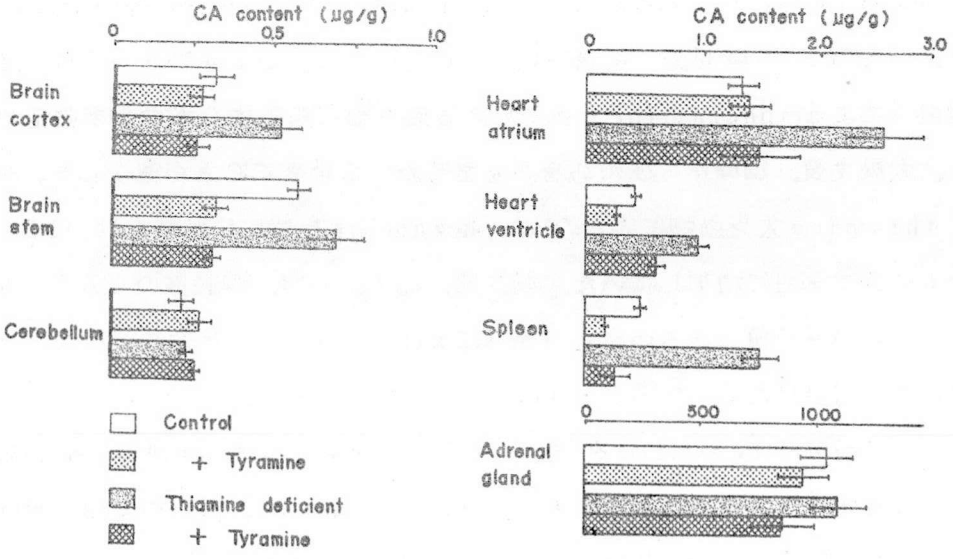
また、対照群にtyramineを投与した場合、脳幹、心室、脾臓等の臓器においてはCA含量の軽度の減少がみられた。Thiamine欠乏動物にtyramineを投与した場合には、amphetamine投与の場合と全く同様、thiamine欠乏で増加を示した組織内CA含量は、対照群の値あるいは対照群にtyramineを処置した場合と同量になるのが認められた。

Fig. 8.



Effects of amphetamine on catecholamine content of various tissues in thiamine-deficient rats. Catecholamine content 5 hr after intraperitoneal injection of dl-amphetamine 50 mg/kg. CA:Catecholamine. The values are the means ± standard errors.

Fig. 9.



Effects of tyramine on the catecholamine content of various tissues in thiamine-deficient rats. Catecholamine content 5 hr after intraperitoneal injection of tyramine 10 mg/kg. CA:Catecholamine. The values are the means ± standard errors.

第四節　Thiamine 欠乏ラットの insulin shock　抵抗性

生体に酸素欠乏、急激な興奮、低血糖、寒冷、出血等の諸種ストレスが加わると、副腎髄質からＣＡの遊離が上昇することはよく知られている。一方、insulinが副腎からＣＡを遊離させることも周知の事実である。この insulinの副腎からのＣＡの遊離の機構の詳細は不明の点が多く、また、神経系におけるＣＡが insulinによってどのような影響をうけるかについての知見はまだこれをみない。とくに、insulinの糖質代謝における役割を考慮に入れると、中枢神経系のＣＡがこのホルモンによりどのような影響をうけるかは、その部位におけるＣＡの生理的意義の解明にとって重要な問題である。前章において、著者は reserpine , amphetamine , tyramine等の薬物によって起る組織内ＣＡの変動と行動変化の関連性を thiamine 欠乏動物と対照動物について検討した。そこで、次に組織内のＣＡの遊離と turnoverの低下している thiamine欠乏ラットを用いて、insulinを投与した場合の生体反応とＣＡの変動について実験を行なった。この場合、insulin の投与量はとくに低血糖による shockを発現させる大量を選び shock時の中枢神経系におけるＣＡが果す役割についての情報を得んとした。

実験材料および方法

欠乏群、対照群ならびに pair fed群の三群に１００ i.u.／Kg の insulinを腹腔内に投与した。Insulin 投与後はケージから餌料を取り除き、水のみを自由に与えた。Insulin 投与後は、飼育時と同じ恒温、恒湿の部屋で実験した。また組織内ＣＡ含量は、trihydroxyindole法で、また血糖は動物を断頭し、全血を用いて、Morris[51]の anthrone法により測定した。

実　験　成　績

対照動物ならびにpair fed動物に100 i.u./Kgのinsulinを腹腔内に投与すると、1.5時間後において自発運動の抑制に続き、振顫、間代性痙攣等の症状が観察され、2.5時間後には虚脱状態になり、昏睡期を経て、3.2時間後には全動物が死亡した。一方、thiamine欠乏動物に同量のinsulinを投与した場合には、自発運動の軽度な抑制が観察される程度で、痙攣や虚脱状態は全く観察されず全例に死亡が認められなかった。Thiamine欠乏動物に、insulin投与の5時間前に4 mg/Kgのthiamine HClを皮下に前処置すると、対照動物ならびにpair fed動物にみられた痙攣、虚脱、昏睡等の諸種症状が発現し、7時間後には5例中4例が死亡した（第12表）。

Table 12 *Effect of thiamine-deficiency on the lethal effect of insulin.* Insulin (100 i.u./kg) was injected intraperitoneally. Thiamine hydrochloride (4 mg/kg) was injected subcutaneously 5 h before insulin.

	No. of animals	Mortality (%)
Control	28	100
Thiamine-deficient	26	0
Pair-fed	8	100
Thiamine-deficient + thiamine	5	80

Insulinによるshockは、臨床上、患者にブドウ糖液を静脈内注射すると正常に回復することから、insulinの血糖低下作用に起因すると考えられている。そこで、insulin shockに対する抵抗性を示したthiamine欠乏ラットにおいて、同量のinsulinが血糖値にどのような影響を与えるかについて検討した。

対照動物にinsulinを投与すると、1時間後に、初期値の50％、2時間後には70％の減少がみられ、死亡寸前には、血糖は全く検出されなくなった。一方、thiamine欠乏動物においては、投与2時間以内では、対照群に比し、

より急速に減少するが、5時間後においてもなお7～8 mg/dlの血糖値を示した。pair fed群においては、投与2時間では、thiamine欠乏動物でみられたごとく、急速に血糖が降下するが、約2.8時間後には血糖は検出されなくなった（第10図）。

Fig. 10.

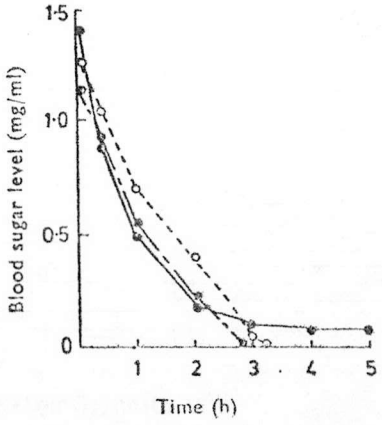
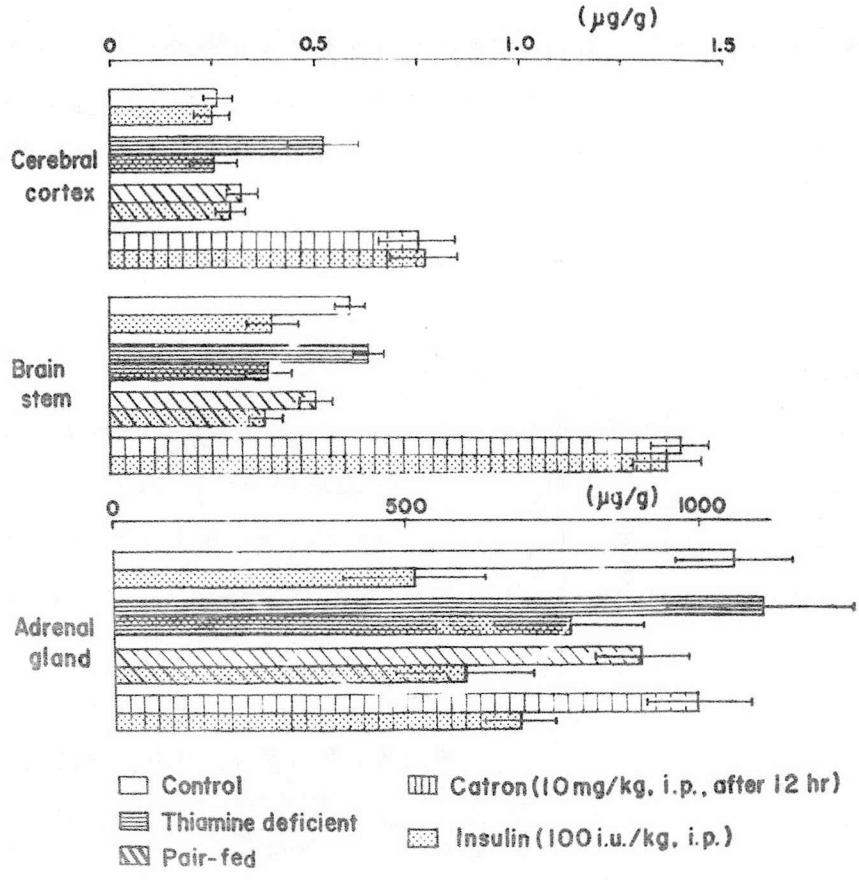


FIG. 1. Effect of insulin (100 i.u./kg, i.p.) on the blood sugar level of rats. Each point represents the mean of values of 3 to 5 animals. ●—● Thiamine deficient; ○- - ○ control; ● ● pair fed.

次に欠乏群、対照群ならびにpair fedに同量のinsulinを投与し、3時間後に、大脳皮質、脳幹ならびに副腎のCA含量を測定した。対照群ならびにpair fed群にinsulinを投与した場合、脳幹、副腎においてCAの減少が認められ、一方、thiamine欠乏動物に投与した場合は、脳幹、副腎のほか、大脳皮質においてもCAの減少がみられた（第11図）。

Fig. 11.



第 3 章 の 総 括 と 考 察

Thiamine欠乏動物ならびに欠乏動物に thiamine を投与した動物でみられたごとく（第11表）、血液中のCA量と血圧とは密接な関係にあり、thiamine欠乏でみられる血圧の低下は血中CA量の減少に起因するものと推定出来る。

Thiamine欠乏での心拍数の減少、血圧の低下、更に諸種多発性神経炎症状の発現ならびに thiamine 投与によるこれら症状の改善は、神経の刺激伝達物質であるCAの turnover の変動と密接な関係にあることが明らかになった。即ち、これら諸種症状の発現時には、CAの turnover も低下しており、

また、thiamine投与によるCAのturnoverの急速な回復に伴いこれら症状が著明に改善される。このことから著者の認めたthiamine欠乏動物での血圧の低下は、組織内CAのturnoverの低下の結果として、血中CA量も低下しこれが上述したごとく血圧の低下を惹起するものと推測される。

以上の実験結果から、thiamine欠乏でみられる諸種症状の発現と回復は、組織内CAのturnoverの変動と一致することが明らかになった。このことより、thiamine欠乏では、交感神経系あるいはある種のneuronでの神経刺激伝達物質としての機能維持に障害をきたし、更には、CAのcyclic 3′,5′-AMPを介する作用減弱の結果、糖代謝、脂質代謝等の代謝調節の乱れならびにイオン透過性等の変化が生じ、複雑且つ重症の神経症状がひきおこされるものと考えられる。しかしながら、thiamine欠乏症状の全容をCAのturnoverの低下に起因するものと断定することはなお早計であり、thiamineの補酵素としての作用、cholinergic面での機能ならびに中枢神経系でのより詳細な機能維持における役割等についても十分考慮する必要があり、更に病理組織学的な所見との関係についても詳細に検討しなければならず、今後の課題となろう。

CAのreleaserであるreserpineは神経細胞の比較的内部にある顆粒内のCAを放出し、[52-58] ミトコンドリアの膜に存在するMAOを活性化し、[55-58] 生理的不活性な脱アミノ化されたCAを循環中に放出すること[59]が知られている。一方、tyramine, dl-amphetamine の場合は、交感神経に機械的な刺激を与えた場合と同様に、神経末端（synaptic terminal）の比較的小さな顆粒内のCAと置き替り、生理的に活性なCAを循環中に放出することが知られている。[60-63]

対照群に、1 mg/Kgのreserpineを投与した場合、1時間後には、自発運動の減少、眼瞼下垂等の鎮静状態が観察されるが、thiamine欠乏動物に同量のreserpineを投与した場合には、その抑制作用はほとんど観察されず、12時間後においても対照群と比較すると、その鎮静状態は極めて軽度であった。

この場合、reserpine処置によって組織内より減少するＣＡ量は、thiamine欠乏群、対照群でほぼ等しく、残存ＣＡ量についてみると、対照群では欠乏群に比し、著るしく減少している。このことが対照動物で鎮静状態ならびに心拍数の著明な減少を来たす原因であると推測される。

Thiamine欠乏群では、ＭＡＯ活性が抑制されており、更に組織内ＣＡの初期値が高いことからreserpine投与後にも、残存ＣＡ量が多く、この残存ＣＡが生理的に活性な型（未変化のＣＡ）で循環中に放出されて、receptorと結合するため、鎮静状態や心拍数の低下がほとんど起らないものと推測出来る。このような結果は、動物をあらかじめＭＡＯ阻害剤で前処置し、reserpineによる組織内のＣＡの分解ならびに減少を抑制すると鎮静状態が観察されないという報告[64－66]と一致している。

一方、対照群にtyramineを投与した際には、心拍数の増加はほとんど認められなかったが、thiamine欠乏群では、心拍数の著明な増加を示し、これと平行して、thiamine欠乏で増加した組織内ＣＡが正常値にまで減少した。このことから、thiamine欠乏で異常に蓄積した組織内のＣＡがtyramineにより生理的に活性な型で神経細胞外に放出され、これがreceptor と結合し、上述の心拍数の増加を示したものと考えられる。また、thiamine欠乏動物にamphetamineを投与した場合、対照群と比較して、興奮がより著明に観察されたことは、tyramineの場合と同様、thiamine欠乏動物では中枢神経内から放出されるＣＡ量が対照群に比し、より多いためと推測される。

また、reserpine投与５時間－１２時間後に放出されるＣＡ量は、対照群とthiamine欠乏群の間で、著明な差異はなかった。一方、tyramine やamphetamine投与により、thiamine 欠乏で増加した全組織のＣＡが正常値に減少し、著明な生理的responseを示した。これらのことから、thiamine欠乏で増加したＣＡの存在部位は、神経末端のいわゆるsynaptic terminalのＣＡ含有顆粒であると推定出来る。

Thiamine欠乏でみられる組織内ＣＡ量の増加ならびに組織内ＣＡのturn－

overの減少とinsulin shockに対する抵抗性との直接関係は、なお明確にすることが出来なかったが、thiamine欠乏動物では副腎と大脳皮質のCAが著明に減少し、一方、対照群、pair fed群では大脳皮質での減少はみられず、副腎と脳幹のみの遊離しか認められないことから、thiamine欠乏では、大脳皮質から遊離されたCAがinsulin shockに対して抵抗性を示すのかも知れない。Thiamine欠乏動物のinsulin shockに対する抵抗性を説明しうるもうひとつの可能性としては、欠乏動物の組織内CAのturnoverの問題である。この問題に関しては、第5章で述べるが、thiamine欠乏動物に1 i.u./Kgのinsulinを投与すると、対照群に同処置をしたものに比べて、全組織のCAのturnoverが著明に増加する事実である。Insulinの投与量は異なるが、この組織内CAのturnoverの上昇が、insulin shockに対して抵抗性を示すことが考えられる。更にもうひとつの可能性としては、副腎機能の亢進が考えられる。

Thiamine欠乏動物では、cortisoneの感受性に相異があるとの報告[67]があることから、glucocorticoidがinsulin shockの抵抗性に関与していることも考えられる。更に、insulinの作用に拮抗するものとして、glucagon，ACTH，thyroxine等も考慮する必要があるが、用いたinsulinの量が100 i.u./Kgの大量であることから、これらホルモンの関与は比較的可能性が少ないように思える。また、対照群では、insulin投与により血糖値が初期値の30％以下になると、痙攣、虚脱状態を示すが、欠乏群では、10％以下に減少しても自発運動の抑制がみられるのみであった。Insulin shockに対する抵抗性の起因については、血糖値以外に、他の糖質、アミノ酸、ケトン体、更には、insulinの代謝分解、中枢神経系でのイオンの動態についても十分考慮しなければならないものと考える。

小　　括

1) Thiamine欠乏動物の血圧は、95 mmHgで対照群の120 mmHgに比較して著明に低下していることが認められた。

2) Thiamine欠乏動物に4 mg/kgのthiamineを皮下注射すると、1時間後で回復が認められた。

3) Thiamine欠乏動物の血中CA量は15 ng/mlで対照群の値（30 ng/ml）に比べ、著明に低下していた。

4) Thiamine欠乏動物に4 mg/kgのthiamineを投与することにより、1時間で回復した。

5) Thiamine欠乏動物のtyramineならびにNAの血圧に対する感受性は、対照群との間に差異は認められなかった。

6) Thiamine欠乏動物にtyramine 10 mg/kgを腹腔内に投与すると、血液中のCA量の増加とともに血圧も正常に回復した。

7) 心拍数の対照群の70 %以下に低下したthiamine欠乏動物に4 mg/kgのthiamineを皮下注射すると、注射後15分から遅くとも3時間以内には正常値に回復した。

8) 心拍数310 beats/minのthiamine欠乏群の心房、心室のCA合成能は、心拍数410 beats/minのthiamine欠乏群の心房、心室のCA合成能に比し、より著明に低下していた。

9) Thiamine欠乏動物に4 mg/kgのthiamineを皮下注射することにより、心拍数の増加とともに、同組織でのCAの合成能も増加した。

10) 対照動物に、300 mg/kgのα－MT、ならびに200 mg/kgのDDCを2時間毎に4回、皮下投与することにより、心拍数が著明に減少した。

11) Thiamine欠乏動物に1 mg/kgのreserpineを投与した場合、5時間後においても自発運動の軽度な抑制が観察される程度で、対照動物に同処置をした場合にみられる眼瞼下垂、昏睡、下痢等は全くみられなかった。

12) Thiamine欠乏動物に50 mg/Kg のdl-amphetamineを腹腔内に投与すると、対照群に同処置をした場合に比較し、運動量の増加、興奮状態、眼瞼突出はより著明であった。

13) Thiamine欠乏動物にreserpine 1 mg/Kg を投与した場合には、対照群にみられる様な心拍数の低下はほとんどみられなかった。

14) Tyramineを投与した場合、対照群においては心拍数の増加は全く認められなかったが、thiamine欠乏群においては著明に増加した。

15) Thiamine欠乏動物ならびに対照動物に、1 mg/Kg のreserpine を投与した場合、両群とも、組織内より遊離されるCA量には、5時間～12時間後においては、ほとんど差はなかった。

16) Thiamine欠乏動物に10 mg/Kg のtyramineあるいは50 mg/Kg のamphetamineを投与すると、5時間後には組織内のCA含量は正常値に回復した。

17) Thiamine欠乏動物に100 i.u./Kg の大量のinsulinを腹腔内に投与した場合、対照群でみられる虚脱状態や昏睡は全く観察されず、insulin shockに対して極めて強い抵抗性を示した。

18) Thiamine欠乏動物に、100 i.u./Kg のinsulinを投与する5時間前に、4 mg/Kg のthiamineを処置すると、shock症状が発現し、7時間後には5例中4例が死亡した。

19) 対照群とthiamine欠乏群では、血糖値にはほとんど差を認めなかった。

20) 対照動物に100 i.u./Kg のinsulinを投与した場合、その血糖値は1時間後に初期値の50 %に低下し、死亡寸前には検出不可能となった。

21) Thiamine欠乏動物に100 i.u./Kg のinsulinを投与すると、2時間までは対照群に比較し、より急速に血糖値が減少するが、5時間後においてもなお7～8 mg/dl の血糖値を示した。

22) 対照群に100 i.u./Kg のinsulinを投与すると、脳幹、副腎のCA含量が減少し、thiamine欠乏動物の場合は、脳幹、副腎の他、大脳皮質においてもCA量が減少した。

第4章　遊離型thiamineからエステル型thiamineへの促進因子について

Thiamine欠乏動物の組織内thiamine含量については数多くの報告があり、森川[68, 69]は遊離型thiamine量のエステル型thiamine量に対する割合（遊離型／エステル型）は、対照群に比較して増加することを報告している。著者もthiamine欠乏ラットの組織内thiamine含量を遊離型とエステル型に分けて測定し、組織内CA含量ならびにCAのturnover との関係について検討を加え、更に遊離型thiamineのエステル型thiamine に対する割合が増加する因子について検討を加えた。

第1節　Thiamine欠乏ラット組織内thiamine含量

実験材料および方法

対照動物ならびにthiamine欠乏動物を断頭後、各臓器を0.9％生理食塩水で血液を洗い落し、0.1N H_2SO_4（副腎は3 ml、他の臓器は5 ml）でhomogenizeし、このhomogenateを85℃～90℃で30分間水浴中で加熱し、組織内のthiamineを抽出する。抽出液を冷却後、3M CH_3COONaでPH 4.75に調節し、常法により調整したタカジアスターゼ液を加え、55℃の水浴中で加熱した後、9,000 gで15分間遠沈し、その上清液を藤原ら[70]のBrCN法により組織内のthiamine含量を測定した。なお、遊離型のthiamine量はタカジアスターゼ酵素液を反応させない場合の測定値で示し、エステル型のthiamineは酵素液を作用させたものについて測定した。

実　験　成　績

対照群の組織内 thiamine 含量を、第１３表および第１２図に、また thiamine 欠乏群の組織内 thiamine 含量を、第１４表および第１２図に示す。

欠乏動物の組織内 thiamine 含量は遊離型、エステル型ともに全組織において著明に減少し、特に肝臓においては、対照群の９％にまで減少した。また心房においては遊離型の thiamine は著明に減少するが、エステル型の thiamine の減少は比較的少なく、対照群の８８％に減少するにすぎず、遊離型のエステル型に対する割合は対照群に比べて逆に高くなっている。心房以外の全臓器においては、この割合が著明に上昇し、２倍－１２倍にまで上昇していた。Thiamine 欠乏動物に１ mg/Kg の thiamine ならびにその誘導体である thiamine propyl disulfide (TPD) 1.06 mg/Kg を１日２回、２日間皮下投与すると、総 thiamine 含量は、正常値に回復した。しかしながら、遊離型の thiamine 含量が多く、遊離型とエステル型の比は対照群と比較して高かった。

Table 13.

Thiamine content (μg/g) in tissues of control rat

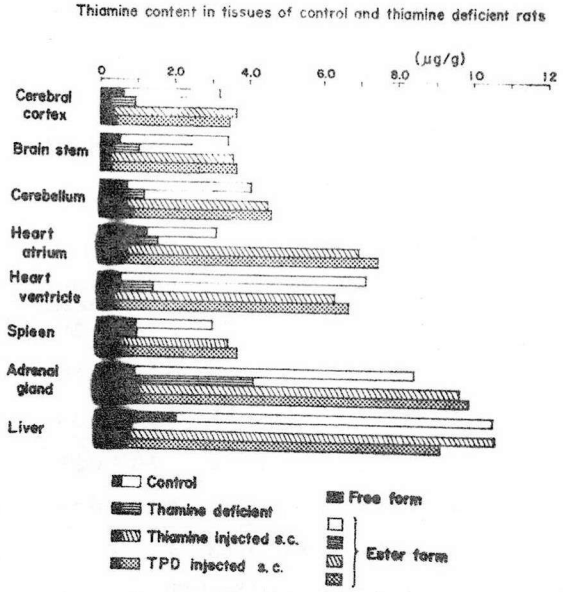
	Free form thiamine	Ester form thiamine	Free + Ester form thiamine	Free / Ester
Cerebral cortex	0.57 ± 0.04	2.81 ± 0.31	3.38 ± 0.31	0.20
Brain stem	0.53 ± 0.04	3.26 ± 0.30	3.79 ± 0.30	0.16
Cerebellum	0.45 ± 0.04	4.42 ± 0.39	4.87 ± 0.38	0.10
Heart atrium	1.66 ± 0.25	1.10 ± 0.02	2.76 ± 0.23	1.51
ventricle	0.46 ± 0.08	5.22 ± 0.74	5.68 ± 0.78	0.09
Spleen	0.62 ± 0.08	1.54 ± 0.03	2.15 ± 0.27	0.40
Adrenal gland	1.83 ± 0.09	2.71 ± 0.04	4.54 ± 0.05	0.67
Liver	1.73 ± 0.02	8.80 ± 0.09	10.53 ± 0.10	0.20

Table 14.

Thiamine content(μg/g) in tissues of thiamine deficient rat

	Free form Thiamine	Ester form Thiamine	Free + Ester Thiamine	Free / Ester
Cerebral cortex	0.35 ± 0.04	0.62 ± 0.06	0.97 ± 0.09	0.57
Brain stem	0.25 ± 0.03	0.97 ± 0.07	1.22 ± 0.01	0.26
Cerebellum	0.61 ± 0.06	0.63 ± 0.08	1.24 ± 0.09	0.97
Heart atrium	0.38 ± 0.04	1.27 ± 0.09	1.65 ± 0.11	0.30
ventricle	0.34 ± 0.03	0.69 ± 0.05	1.03 ± 0.08	0.50
Spleen	0.36 ± 0.03	0.44 ± 0.04	0.80 ± 0.07	0.82
Adrenal gland	0.51 ± 0.07	2.20 ± 0.09	2.71 ± 0.12	0.23
Liver	0.66 ± 0.07	0.27 ± 0.02	0.93 ± 0.08	2.41

Fig. 12.



第二節　Insulin の作用

前節で記したごとく、thiamine欠乏動物では遊離型 thiamine のエステル型に対する割合が著明に増加することを認めたが、alloxan 糖尿病ラットにおいてもこの割合が増加することが知られている。[71] 更に、alloxan 糖尿動物においては、食慾不振、体重減少、基礎代謝の低下、筋緊張の減弱、立毛、軽度の徐脈、更には、運動量の減少ならびに不調和、痙攣、振顫等の症状をともなった thiamine欠乏動物と類似の多発性神経症状が観察されることはすでに知られている。[72-75] このようなことから、thiamine 欠乏動物においても、alloxan糖尿動物の場合と同様に膵β－細胞よりの insulinの遊離の障害、または内因性insulin に対する感受性の低下があるものと推測される。

そこで、thiamine欠乏動物に insulinを投与し、この際みられるbehavior、心拍数の変動ならびに組織内の遊離型、エステル型 thiamineの変動について検討を加えた。

実験材料および方法

Thiamine欠乏動物ならびに対照動物に、1 i.u./Kg の insulin を腹腔内に投与し、水、餌料を自由に与えて、behavior、心拍数を検討した。

また、組織内の遊離型ならびにエステル型の thiamine 含量は前節と同じ方法で測定した。

実　験　成　績

Thiamine欠乏動物に1 i.u./Kg の insulin を腹腔内に投与すると、3－12時間後には、食慾の増加、運動量の増加が観察され、更に痙攣、振顫、

旋回等もある程度改善された。また同量の insulin 投与後の心拍数は3時間後において有意な増加を示し、5－24時間後では、対照群の心拍数近くまで回復することが認められた。一方、対照群に同量の insulin を投与した場合は、投与1－2時間後に、一過性の運動量の減少が認められたが、30分以内に正常に復した。その他の behaviorの変動は観察されなかった。対照動物に insulin を投与して運動量の減少が観察される時期には、一時的に心拍数の低下も認められたが、運動量の増加とともに心拍数も正常値に回復した。

次に、thiamine欠乏動物ならびに対照動物に同量の insulin を投与し、5時間後、12時間後の遊離型、エステル型の thiamine 含量を測定した。第15表に示すごとく、thiamine欠乏動物に insulinを投与した場合、5時間後では、総 thiamine 含量は、大脳皮質、脳幹、小脳、心室、肝臓においては、未処置欠乏群との間に差は認められず、心房、脾臓、副腎においては軽度の増加が認められた。また遊離型 thiamine のエステル型に対する割合は心室を除く全ての臓器において著明に増加し、対照群の値近くにまで回復した。

Insulin投与12時間後においては、総 thiamine 含量は、心房、副腎において軽度の増加がみられるが、他の臓器では変動は認められず、またこの割合も著明に減少し、対照群の値と同等あるいは、それ以下となった。

Table 15.

Thiamine content (μg/g) in tissues of thiamine deficient rat treated with insulin (I i.u/kg, i.p.)

	After 5 h		After 12 h	
	Free + Ester thiamine	Free/Ester	Free + Ester thiamine	Free/Ester
Cerebral cortex	1.100	0.224	1.379	0.059
Brain stem	1.517	0.195	1.320	0.125
Cerebellum	1.667	0.178	1.429	0.068
Heart atrium	2.325	0.215	2.766	0.085
ventricle	1.169	0.459	0.909	0.350
Spleen	2.001	0.297	0.622	0.513
Adrenal gland	3.999	0.129	2.950	0.263
Liver	0.805	0.938	0.702	0.217

一方、対照群に同量のinsulinを投与した場合、5時間後において、全組織の総thiamine含量には、未処置対照群との間にほとんど変動は認められないが、遊離型thiamineのエステル型thiamineに対する割合が、大脳皮質、脳幹、心房、脾臓、肝臓で軽度に減少することが認められた（第16表）。

Table 16.

Effect of insulin on thiamine phosphotransferase in tissues of thiamine deficient and control rats

(Free form / Ester form thiamine)

	Thiamine deficient	Thiamine deficient + Insulin	Control	Control + Insulin
Cerebral cortex	0.57	0.22	0.20	0.13
Brain stem	0.26	0.19	0.16	0.08
Cerebellum	0.97	0.18	0.10	0.18
Heart atrium	0.30	0.21	1.51	0.72
ventricle	0.50	0.45	0.09	0.08
Spleen	0.82	0.30	0.40	0.30
Adrenal gland	0.23	0.13	0.67	0.60
Liver	2.41	0.94	0.20	0.11

Insulin (1i.u./kg, i.p.), after 5 hours

第三節　Tyramine, dl-amphetamineの作用

前節で述べたごとく、thiamine欠乏動物でみられる組織内の遊離型thiamineのエステル型thiamineに対する比の増加が、insulin投与により著るしく減少し正常値に回復することが認められた。一方、thiamine欠乏動物では組織内のCAのturnover　の減少と、組織内CAの異常蓄積も考慮に入れると、この増加した組織内のCAを第3章．第三節において用いたようなCA releaserを投与することにより、組織内のCAのturnoverを変動

させた場合には、この比がいかなる変動を示すかについて検討を加えた。更にまた、この変動と組織内ＣＡの変動との間の相互関係についても検討を加えた。

実験材料および方法

Thiamine 欠乏動物ならびに対照動物の組織内の遊離型 thiamine 、エステル型 thiamine の定量は前節で述べた方法で行なった。

なお、 tyramine , dl−amphetamine , reserpine 投与後は、餌料および水を自由に与えた。

実　験　成　績

Thiamine欠乏動物に 1mg／Kg の reserpineを皮下に投与し、５時間後に、thiamine含量を測定すると、全組織において遊離型の thiamine ならびにエステル型の thiamine含量ともに、ほとんど変動は認められなかったが、tyramineを１０mg／Kg 腹腔内に投与すると、５時間後に、大脳皮質、脳幹、小脳、心房、心室、脾臓、副腎、肝臓等の全組織において遊離型の thiamine 含量が著明に減少することが認められた。１０mg／Kg の dl−amphetamineを腹腔内に投与した場合も、 tyramineでみられたと同様、大脳皮質、脳幹、小脳、心室、副腎、肝臓において、遊離型の thiamine が著明に減少した（第１７表）。なお、エステル型の thiamine 含量は、全組織においてほとんど変動が認められなかった。

Table 17.

Effects of reserpine, tyramine, and dl-amphetamine on free form thiamine content(μg/g) and catecholamine level(μg/g) in tissues of thiamine deficient rat

	Thiamine def.	+Reserpine	+Amphetamine	+Tyramine
Cerebral cortex	0.35 (0.52)	0.22 (0.13)	0.05 (0.21)	0.01 (0.23)
Brain stem	0.25 (0.63)	0.26 (0.34)	0.11 (0.38)	0.09 (0.26)
Cerebellum	0.61 (0.24)	0.56 (0.12)	0.13 (0.22)	0.30 (0.25)
Heart atrium	0.38 (2.60)	0.62 (1.78)	0.31 (1.37)	0.09 (1.31)
Heart ventricle	0.34 (0.94)	0.36 (0.03)	0.07 (0.70)	0.01 (0.53)
Spleen	0.36 (1.95)	0.40 (0.37)	0.30 (0.48)	0.01 (0.20)
Adrenal gland	0.51 (1107.7)	0.49 (778.5)	0.004(1123.7)	0.30 (898.2)
Liver	0.66	0.60	0.15	0.10

Thiamine content (CA level)

Reserpine (3mg/kg, i.p.), after 5 hours
Tyramine (10mg/kg, i.p.), 〃
dl-Amphetamine (10mg/kg, i.p.), 〃

一方、対照動物に同量のreserpineを投与した場合も、thiamine 欠乏動物の場合と同様、全組織において、5時間後に、遊離型、エステル型のthiamineともに変動を認めなかった。

対照動物にMAO阻害剤であるCatron 10mg/Kgを腹腔内に投与し、同時に同量の reserpine を皮下に投与した場合には、5時間後に、大脳皮質、脳幹、小脳、心房、副腎において、遊離型の thiamine 含量に減少がみられた。なお、Catronのみの投与5時間後では、全組織において遊離型、エステル型 thiamine 両含量ともに変動は認めなかった。一方、10mg/Kgの tyramine を投与した場合は、脳幹、脾臓において遊離型の thiamine が軽度に減少し、dl-amphetamine 10mg/Kgの場合は、大脳皮質、脳幹、小脳、心房、心室、脾臓等の臓器において、遊離型 thiamine が減少した（第18表）。なお、対照動物の場合も、これらCAの releaser を与えた場合、エステル型の thiamine 含量にはほとんど変動がなかった。

Table 18.

Effects of reserpine, tyramine and dl-amphetamine on free form thiamine content (μg/g) and catecholamine level (μg/g) in tissues of control rat

	Control	+Reserpine	+Amphetamine	+Tyramine
Cerebral cortex	0.57 (0.26)	0.52 (0.06)	0.20 (0.18)	0.57 (0.25)
Brain stem	0.53 (0.58)	0.50 (0.21)	0.21 (0.24)	0.42 (0.26)
Cerebellum	0.45 (0.22)	0.47 (0.20)	0.18 (0.22)	0.42 (0.25)
Heart atrium	1.66 (1.31)	1.58 (0.78)	0.26 (0.91)	1.50 (1.33)
Heart ventricle	0.46 (0.34)	0.42 (0.03)	0.16 (0.20)	0.38 (0.21)
Spleen	0.62 (0.40)	0.60 (0.04)	0.41 (0.36)	0.22 (0.17)
Adrenal gland	1.83 (1063.0)	1.65 (823.7)	0.001 (901.7)	1.64 (983.8)
Liver	1.73	2.01	1.54	1.83

この様に、tyramine ならびに dl-amphetamine は、組織内のCAの turnover を変化させることにより、組織内の遊離型の thiamine を減少させる。この関係を第17表および第18表に示した。表の数値は、薬物未処置または薬物処置5時間後の組織内遊離型 thiamine 含量を、括弧内の数値は組織内のCA含量を示している。このことから、組織内の遊離型 thiamine 量の減少と組織内CA量の減少とは極めて密接な関係にあることが明らかである。

第 4 章 の 総 括 と 考 察

Thiamine 欠乏動物の組織内の遊離型の thiamine、エステル型 thiamine はともに全組織において著明に減少するが、遊離型のエステル型に対する割合は逆に増加することが認められた。Thiamine 欠乏でみられるこの割合の増加は、thiamine 投与により減少し、正常に回復するが、insulin

投与によっても正常値への回復がみられた。一方、thiamine 欠乏でみられた心拍数の低下も insulin 投与により著明に増加し、正常値にまで回復する。Thiamine欠乏では、前述のＣＡの turnover の低下とともに、膵β－細胞よりの insulin 遊離の障害、あるいはまた、内因性 insulinの欠乏状態が考えられる。即ち thiamine欠乏動物では、内因性 insulinの欠乏状態の結果 thiaminokinase (thiamine phosphotransferse)活性の低下が生じ、遊離型 thiamineのエステル型に対する割合が増加し、insulinを投与することにより本酵素活性が上昇して、この割合が減少することが考えられる。

Thiamine欠乏動物に tyramineならびに amphetamineを投与すると、対照動物に同処置をした場合と比較して遊離型の thiamine 含量が全組織において、より著明に減少し、遊離型／エステル型の比が減少した。これは、これらＣＡの releaserを投与することにより、thiamine 欠乏で異常に蓄積した組織内のＣＡ、即ち神経末端のＣＡが神経末端の顆粒より多量に放出され、receptor と結合して、細胞膜の adenylcyclase 活性を上昇させて、cyclic 3′,5′－ＡＭＰ量を増加させ、この cyclic 3′,5′－ＡＭＰが thiamine 欠乏で低下していた膵β－細胞よりの insulinの遊離を促進し、thiaminokinase 活性を上昇させた結果と推測出来る。（なお、この推論に関しては、thiamine欠乏動物で低下した組織内のＣＡの turnover を tyramine 等を用いて回復させることにより、膵β－細胞よりの insulin の遊離が促進されること、ならびに、対照動物においても組織内ＣＡの turnoverを低下させることにより、膵β－細胞よりの遊離に阻害がかかることを認め、著者ら[76]は本論文以外の実験で明確にしている。）

一方、thiamine 欠乏動物に reserpine を投与した場合に、thiamine 含量に変動が認められないことは、前章で述べたごとく、reserpine により、神経細胞内で不活化（脱アミノ化）されたＣＡが放出される結果、adenylcyclase活性の増加が惹起されず、従って、膵β－細胞よりの insulin の遊離が促進されない為と考えられる。また、対照動物に reserpine と Catron

を同時投与すると、遊離型の thiamine が軽度ではあるが全組織において減少したことは、MAOの阻害の結果、reserpineにより放出されるCAが一部活性な型で神経細胞外に放出され、receptor と結合する結果かも知れない。

Tyramine ならびに amphetamine 投与により組織内の遊離型の thiamine が減少するもうひとつの可能性として、組織内CAの減少量と組織内遊離型 thiamine の減少量とが密接な関係にあることから（第17，18表）、神経細胞内の末端顆粒よりのCAの遊離にともない、遊離型の thiamine も放出されることが推測される。このことは、thiamine 欠乏動物では、組織内遊離型 thiamine の減少の結果、神経末端よりのCAの遊離に障害が生じ、組織内にCAが異常に蓄積し、更に組織内CAの turnoverが減少することが考えられる。即ち thiamine 欠乏動物では、CAの turnover の低下の結果、膵β一細胞よりの insulin の遊離阻害が生じ、これが thiaminokinase 活性の低下をきたし、組織内での、遊離型 thiamine のエステル型に対する割合が増加するものといえる。また、CAの組織内よりの消失とともに遊離型の thiamine も減少することは、上述の insulin 遊離の促進によりthiaminokinase が活性化されることと、CAの遊離にともない遊離型の thiamine も細胞外に出るという2つの機構が同時に生体内でおこっているためと考える。

小　　括

1) Thiamine 欠乏動物の組織内 thiamine 含量は、遊離型、エステル型ともに全組織において著明に減少していることが認められた。

2) Thiamine 欠乏動物の心房以外の全組織においては、遊離型 thiamine のエステル型 thiamine に対する割合は、対照群と比較して著明に増加していた。

3) Thiamine 欠乏動物に 1 mg/Kg の thiamine を投与することにより、総 thiamine 含量ならびに上述の割合が正常に回復した。

4) Thiamine 欠乏動物に、1 i.u./Kg の insulin を腹腔内に投与することにより、thiamine 欠乏でみられる痙攣、振顫、旋回等の神経症状がある程度改善された。この場合心拍数は、3時間後に増加を示し、5～24時間後には対照群の心拍数にまで回復した。

5) Thiamine 欠乏動物に同量の insulin を投与すると、遊離型 thiamine のエステル型 thiamine に対する割合は、全組織において正常値に回復した。

6) 対照動物に同量の insulin を処置した場合にも上述の割合が、大脳皮質、脳幹、心房、脾臓、肝臓等の臓器で軽度に減少した。

7) Thiamine 欠乏に 1 mg/Kg の reserpine を投与した場合には、全組織において、総 thiamine 含量ならびに上述の割合にはほとんど変化はみられなかった。

8) Thiamine 欠乏動物に、10 mg/Kg の tyramine を腹腔内に投与すると、5時間後に、大脳皮質、脳幹、小脳、心房、心室、脾臓、副腎、肝臓等の全臓器において遊離型 thiamine が著明に減少することが認められた。

9) 10 mg/Kg の amphetamine を thiamine 欠乏動物に腹腔内投与した場合も、大脳皮質、脳幹、小脳、心室、副腎、肝臓において遊離型 thiamine が著明に減少した。

10) 対照動物に1 mg/Kg の reserpine を投与した場合、5時間後においては、全組織において、総 thiamine 含量ならびに上述の割合に、ほとんど変動はみられなかった。

11) 対照動物に、同量の reserpine と10 mg/Kg のCatronを腹腔内に同時投与した場合には、5時間後で、大脳皮質、脳幹、小脳、心房、副腎等の臓器において、遊離型の thiamine の減少がみられた。

12) 対照動物に10 mg/Kg のCatron を投与した場合には、総 thiamine 含量、遊離型の thiamine 含量ともに変動は認めなかった。

13) 対照動物に tyramine 10 mg/Kg を腹腔内に投与すると、脳幹、脾臓において、遊離型の thiamine が減少した。

第５章　Insulinの組織的Catecholamineのturnover rate促進作用

Thiamine欠乏動物にinsulinを投与することにより、低下していた心拍数が著明に増加し、正常値に回復するとともに、欠乏状態でみられる多発性神経症状がある程度改善された。それと同時に遊離型thiamineからエステル型thiamineへの移行促進作用（thiamine phosphotransferaseの活性化）がみられた。これらの原因として、前章で、thiamine 欠乏で組織内ＣＡのturnoverの低下により、膵β－細胞よりのinsulin遊離が抑制され、その結果、thiamine欠乏動物では、循環中にinsulinが欠乏していることが考えられると述べた。

本章では、このように、循環中のinsulinが欠乏状態にある時、逆に、insulinを投与した際、組織内ＣＡのturnoverに対して如何なる影響を与えるかについて検討を加えた。

なお、組織内のＣＡの合成能は、第２章、第四節で述べた方法で、Catronを投与し、この間に蓄積される組織内ＣＡ量を測定することにより得た。

実験材料および方法

Insulinの組織内ＣＡのturnoverに対する影響を検討する方法は次の通りである。

Ａ：未処置動物の組織内ＣＡ含量を測定する（未処置動物の組織内ＣＡ含量）

Ｂ：動物に１０㎎／㎏のCatronを腹腔内に投与し、１時間後の組織内ＣＡ含量を測定する（未処置動物の組織内ＣＡ含量＋組織内ＣＡの１時間の増加分）。

Ｃ：動物に１ｉ．ｕ．／㎏のinsulinを腹腔内に投与して、５時間後の組織内ＣＡ含量を測定する（insulin投与５時間後の組織内ＣＡ含量）。

D：動物に1 i.u./Kg のinsulinを投与し、5時間後に、10mg/KgのCatronを腹腔内に追加投与し、1時間後の組織内CA含量を測定する（insulin投与5時間後の組織内CA含量＋insulin投与による組織内CAの1時間の増加分）

対照動物ならびにthiamine欠乏動物のinsulinによる組織内CAの合成能に対する影響はinsulin未処置動物の組織内CAの1時間の増加分と、insulin投与後の組織内CAの1時間の増加分とを比較することにより検討することが出来る。即ち、insulinによる組織内CAの合成能増加分＝(D−C)−(B−A)によって表わされる。

なお組織内のCA含量の測定は、第1章、第三節で述べた方法で、また血液中のCA量の測定は第2章で述べた方法で行なった。

実　験　成　績

対照動物ならびにthiamine欠乏動物の1 i.u./Kg のinsulinによる、組織内CAの合成能に対する影響を第13図に示す。

対照動物に10mg/KgのCatronを投与した1時間後では、第2章で述べたごとく、脾臓、副腎を除く全ての組織でCA量が著明に増加すをことが認められるが、thiamine欠乏動物に同処置をした場合には、全組織においてほとんど、その増加は認められなかった。

一方、血液中のCA量はCatron処置により対照群の場合、減少を示すが、欠乏群の場合には変化は全くみられなかった。

対照群に同量のinsulinを投与すると、5時間後においては、脳幹、小脳、副腎のCA量が減少し、心房、心室では著明に増加することが認められた。なお、血液中のCA量は図には示していないが、同量のinsulin投与1時間後においては、45ng/ml と著明に増加していたが、5時間後には、正常値の範囲に復帰した。

一方、thiamine欠乏動物に、同量の insulin を処置すると、5時間後において、大脳皮質、脳幹、小脳、脾臓、副腎のＣＡ量が著明に減少し、心房、心室においては、変動は全くみられなかった。また、thiamine欠乏動物の血中ＣＡ量は、insulin 投与5時間後では全く変動がみられなかった。しかしながら、insulin投与1時間後では、対照群の場合と同様、22ng/ml に増加することが認められた。

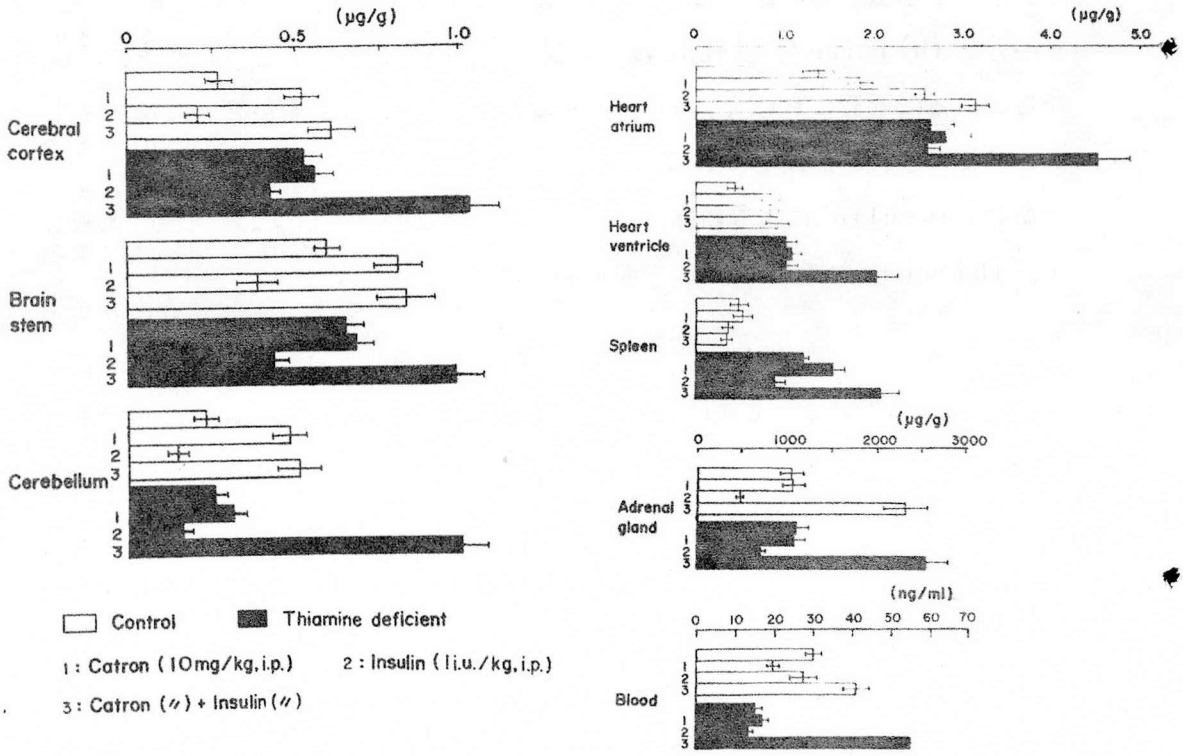
対照動物の insulinによる各組織内のＣＡの合成能に対する影響を検討すると、脳幹、小脳、特に副腎において著明に合成能が増加することが認められた。

一方、thiamine欠乏動物では、大脳皮質、脳幹、小脳、心房、心室、脾臓ならびに特に副腎において、insulinにより、ＣＡの合成能が著明に増加することが認められ、血液中ＣＡ量も著明に増加した。

なお、insulin による組織内ＣＡの増加は全組織において、対照群に比較して、thiamine 欠乏群でより著明であった。

Fig. 13.

Effect of insulin on catecholamine synthesis of rats



第５章の総括と考察

対照動物に１i.u./Kgのinsulinを腹腔内に投与することにより、副腎の他、脳幹、小脳においてもＣＡの合成能が増加し、thiamine欠乏動物に同処置をした場合には、副腎、脳幹、小脳の他、大脳皮質、心房、心室、脾臓等の臓器においてもＣＡの合成能が著明に増加することが認められた。また、ＣＡの合成能は、insulin投与により、対照群に比し、thiamine欠乏群の全組織においてより著明に増加することが認められた。また両群の副腎におけるCAの合成能は、1i.u./Kgのinsulin投与により、数百倍にまで上昇することが推測される。

前章で、組織内ＣＡのturnover速度が膵β－細胞よりのinsulin遊離を規制していることについて述べたが、この章では逆に、insulinが組織内のＣＡのturnoverを規制していることを明確にし、神経の刺激伝達物質であるＣＡと内分泌ホルモンであるinsulinの関係、即ち、交感神経系と内分泌系の相互関係をある程度解明したものと考える。このように、insulinが、thiamine欠乏で低下している組織内のＣＡのturnoverを著明に回復することと、第３章で述べた、心拍数と組織内特に心臓でのＣＡのturnoverとが密接な関係にあることを考慮すると、第４章で認めたthiamine欠乏で低下した心拍数が１i.u./Kgのinsulinにより回復するという現象は首肯出来よう。

以上、本研究で明確となった事実を中心に、組織内ＣＡとinsulinの相互関係を示す仮想図を模式的に作成した（第１４図）。

神経細胞深部の顆粒内でtyrosineより合成されたＣＡは神経細胞の末端部に移行し、その部位における顆粒内に貯蔵される。神経細胞末端部（synaptic terminal）で貯蔵されたＣＡは神経刺激またはinsulin刺激により循環中に遊離され、一部は、分解酵素であるCOMTにより不活化され、また一部は、グルクロン酸ならびに硫酸抱合を受け不活化される。他の一部は、CA receptorと結合する。α－Receptorに結合したＣＡは、膵β－細胞よりのinsulin

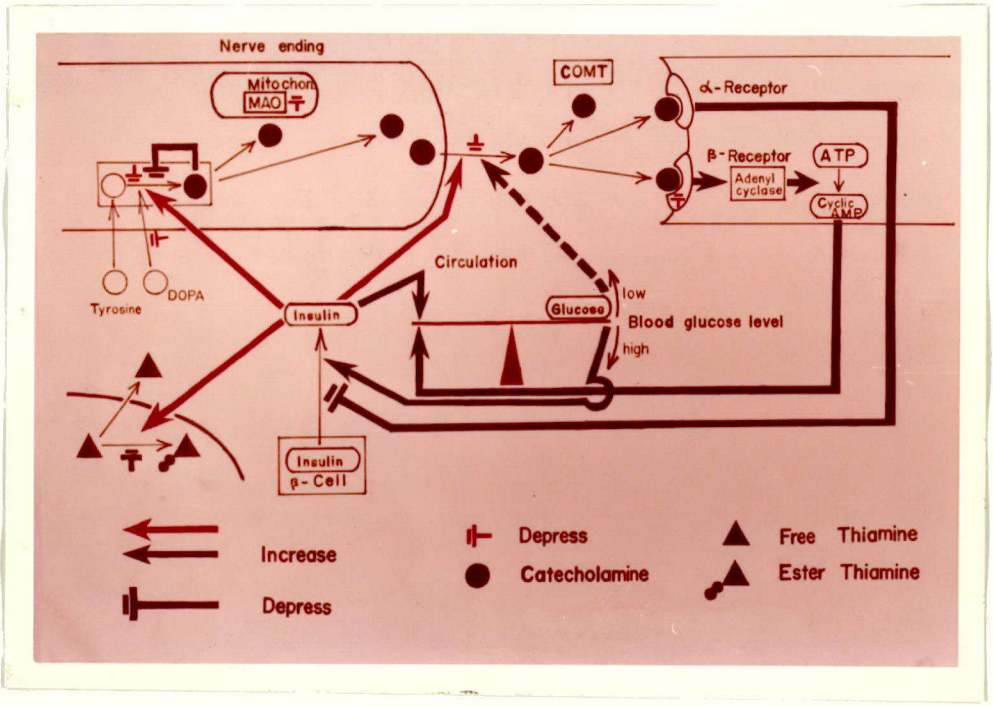
の遊離を阻害する[77]が、β－receptorに結合したCAは細胞膜のadenyl－cyclase 活性を上昇させ[78,79]細胞内の cyclic 3′,5′－AMP 含量を増加させ、これが直接または血糖を介して、膵β－細胞よりinsulin の分泌を促進させる。この分泌されたinsulin が、組織内のCAの合成ならびに遊離（CAの turnover）を促進させる。このように、組織内CAのturnoverは膵β－細胞よりのinsulin の遊離を制禦するとともに、insulin もまた、CAのturnoverを規制し、更に、CAの両receptorを介してinsulin の遊離を制禦し、生体のhomeostasis を保つべく、互いに調節し合っている。Insulin はまた、cyclic 3′,5′－AMPを分解するphosphodiesterase に直接働きその活性を上昇させることも知られていることから、insulin遊離は、直接血糖を介する作用の他、組織内CAの turnover，α－receptorならびにcyclic 3′,5′－AMPを介して調節されているものと推測される（著者ら[76]は、本論文以外の実験で、血糖値の上昇のみでは、insulin は遊離されにくく、組織内のCAの turnover ならびにβ－ receptorのCA感受性もinsulin 遊離の大きな要素となることを明確にした）。

組織内のthiamine含量が減少すると、このような生体のhomeostasisに変化が生じて、CAの遊離に障害が生じ、且つβ－receptorの感受性も低下し、膵β－細胞よりのinsulin の遊離にも障害が生じる。このことが組織内のCAのturnoverをより一層低下させ、悪循環を繰り返し、血圧の低下、心拍数の低下ならびに運動量の減少、食慾不振、体温低下、立毛、振顫、旋回、痙攣等の複雑、重症な多発性神経症状が惹起されるものと推測される。

更に、thiamine欠乏動物では、組織内CAのturnoverの低下に起因した、insulin 遊離障害の結果、thiamineのエステル化が阻害され、補酵素としての作用減弱も加わり、多発神経症状の発現に大きな影響を与えているものと思われる。一方、thiamine，tyramine等は、thiamine欠乏動物で低下した組織内CAのturnoverを上昇させ、膵β－細胞よりのinsulin の遊離促進がみられ、これがthiamine のエステル化を促進させるとともに、CAの

turnoverを更に上昇させ、心拍数、血圧も正常に回復し、また運動量の減少、食慾不振、低体温も著明に改善され、振顫、旋回、痙攣等の多発性神経症状も改善されるものと推測される。

Fig. 14.



小　　括

1）対照動物に１０㎎／Kgのcatronを腹腔内に投与すると、１時間後には、血液中のＣＡ量が著明に減少した。

2）Thiamine欠乏動物に同量のCatronを投与した場合には、１時間後に、血液中のＣＡ量の変動は認められなかった。

3）対照動物に１ｉ．ｕ．／Kgのinsulineを腹腔内に投与すると、５時間後に脳幹、小脳、副腎、血液中のＣＡ量が減少した。一方、心房、心室では逆に

CAの増加がみられた。

4）対照動物に同量のinsulin を投与した1時間後では、血液中のCAは45ng/mlと著明に増加した。

5）Thiamine欠乏動物に同量の insulinを投与すると、5時間後において、大脳皮質、脳幹、小脳、脾臓、副腎のCA量が著明に減少し、心房、心室においては、CA量の変動は全くみられなかった。

6）Thiamine欠乏動物に同量の insulinを投与し、1時間後では、血液中のCAは22ng/mlと増加した。

7）対照動物に同量のinsulinを投与すると、 5時間後で、脳幹、小脳、副腎で著明にCAの合成能が増加した。

8）Thiamine 欠乏動物に同量の insulinを投与した場合、5時間後で、大脳皮質、脳幹、小脳、心房、心室、脾臓ならびに副腎においてCAの合成能がが著明に増加した。

9）Insulin による組織内のCA合成能の促進作用は、全組織において、対照群に比較して、thiamine欠乏群で、より著明であった。

結　　論

Thiamin 欠乏ラットの大脳皮質、心房、心室、膵臓等の臓器において著明にＣＡが増加していることが認められ、この増加は主として、神経刺激伝達物質であるＮＡであることを明確にした。　このＣＡの増加は、分解酵素であるＭＡＯ活性の抑制ならびに循環中へのＣＡ遊離の減少に起因することを明確にした。更に欠乏動物各組織内ＣＡの turnoverの減少を認め、これが膵β－細胞よりの insulin 遊離に障害を与え、この insulin 遊離の障害が、更に組織内のＣＡの turnoverを一層減少させ、これが悪循環を繰り返して、血圧の低下、心拍数の減少、運動失調、運動量の減少、立毛、体温の低下、振顫、旋回、痙攣等の多発性神経症状を惹起する大きな要因となることを明確にした。

本研究は、自律神経系－内分泌系－物資代謝の調節機構の関連を追求する一連の研究の一端をなすもので、これらの関連性を詳細に検討して、thiamine 欠乏動物でみられる。重症、複雑な多発神経症状を、代謝調節の変化を明確にすることにより、解明しょうとしたものである。

稿を終るにあたり、終始御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜った岩田平太郎教授に衷心より感謝致します。　また本実験に適切なる御助言、御協力をいただいた大阪大学薬学部薬理学教室の諸氏に心より感謝致します。

参　考　文　献

1) Eijkman, C.; Virchows Arch. path. Anat., 148, 523 (1897)

2) von Muralt, A.; Experientia, 1, 136 (1945)

3) von Muralt, A.; Ann. N. Acad. Sci. 98:Art., 2, 499 (1962)

4) Hoffman, T., Eckelt, T. & Möbus, W.; Hoppe -Seyler's Z. Physiol. Chem., 335, 156 (1964)

5) Eckert, T. & Möbus, W.; Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 338, 286 (1964)

6) Gurtner, H. P.; Helv. Phys. Pharm. Acta, XI Suppl. (1961)

7) Cooper, J. R., Roth, R.H. & Kini, M. M.; Nature, 199, 609 (1963)

8) Mann, P. J. G. & Quastel, J. H.; Nature, 145, 856 (1940)

9) Glick, D. & Antopol, W.; J. Pharmacol., 65, 389 (1939)

10) Sullmann, W. & Birkhäuser, H.; Schweiz. Med. Wochschr., 69, 648 (1939)

11) Lissak, K., Kovacs, T. & Nagy, E. K.; Pflüger's Arch. Ges. Physiol., 247, 124 (1943)

12) Bhagat, B. & Lockett, M. F.; J. Endocrin., 23,237 (1961)

13) Iwata, H.; Abstracts of Papers Presented at XXIII International Congress of Physiological Sciences, Sep. (1966)

14) Crout, J. R.; Creveling, C.R. & Udenfriend, S.; J. Pharmacol., 132, 269 (1961)

15) Euler, U. S. V. & Hamberg, U.; Science, 110, 381 (1949)

16) Persky, H. & Roston, S.; Science, 118, 381 (1953)

17) Euler, U. S. V. & Floding, I.; Acta physiol. scand. 33 (Suppl. 118), 57 (1955)

18) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A.L. & Randall. R. J.; J. Biol. Chem., 193, 265 (1951)

19) Bogdanski, D. F., Pletscher, A., Brodie, B. B. & Udenfriend, S.; J. Pharmacol. 117, 82 (1956)

20) Udenfriend, S., Weissbach, H. & Brodie, B. B.; Meth. Biochem. Anal., 6, 95 (1958)

21) Linét, O.,Widhalm, S. & Hertting, G.; Int. J. Neuropharmacol., 6, 337 (1967)

22) Kinnersley, H. W. & Peters, R. A.; Biochem. J., 23, 1126 (1929)

23) Peters, R. A., Gavilescue, N., Meiklejohn, A. P. & Passmore, R.; Proc. Roy. Soc. London, B 110, 430 (1932)

24) Platt, B. S. & Lu, G. D.; Biochem. J., 33, 1525 (1939)

25) DeJong, S.; Arch. Neerl. Physiol., 21, 465 (1936)

26) Kopin, I. J.; Pharmacol. Rev., 16, 179 (1964)

27) Kopin, I. J. & Gordon, E.k.; J. Pharmacol., 138, 351 (1962)

28) Richter, D.; J. Physiol., 98, 361 (1940)

29) Axelrod, J., Hertting, G. & Patrick, R. W.; J. Pharmacol., 134, 325 (1961)

30) Cotzias, G. C. & Dole, V. P.; J. Biol. Chem., 190, 665 (1951)

31) Tokawa, T. & Takahashi, R.; Jap. J. Neurochem., 5, 5 (1966)

32) Taniguthi, K., Kakimoto, Y. & Armstrong, M. D.; J. Lab. Clin. Med., 64, 469 (1964)

33) DeRobertis, E.; Histophysiology of synapses and neurosecretion. Pergamon Press, Oxford (1964)

34) Gal, E. M. & Drewes, F. A.; Proc. Soc. exp. Biol. Med., 106, 295 (1961)

35) Vendsalu, A.; Acta Physiol. Scand. 49, suppl., 173 (1960)

36) Udenfriend, S. & Weissbach, H.; Proc. Soc. exp. Biol. Med., 97, 748 (1958)

37) Spector, S. Hirsch, C. W. & Brodie, B. B.; J. Neuropharmacol, 2, 81 (1963)

38) Kulkarni, A. S. & Shideman, F. E.; Europ. J. Pharmacol, 3, 269 (1968)

39) Iwata, H., Nishikawa, T. & Baba, A.; Europ. J. Pharmacol. in press

40) Ahlquist, R. P.; Am. J. Physiol. 153, 586 (1948)

41) Ahlquist, R. P. & Levy, B.; J. Pharmacol., 127, 146 (1959)

42) Furchgott, R. F.; Pharmacol. Rev., 11, 429 (1959)

43) Dikstein, S. & Sulman, F. G.; Biochem. Pharmacol., 14, 881 (1965)

44) Jenkinson, D. H. & Morton, I. K. M. ; J. Physiol., 188, 373 (1967)

45) Edman, K. A. P. & Schild, H. O.; J. Physiol., 169, 404 (1963)

46) Jenkinson, D. H. & Morton, I. K. M.; J. Physiol., 188, 387 (1967)

47) Schild, H. O.; Pharmacol. Rev., 18, 495 (1966)

48) Sutherland, E. W. & Cori, C. F.; J. Biol. Chem., 188, 531 (1951)

49) Hubbard, R. S. & Wright, F. R.; J. Biol. Chem., 49, 385 (1921)

50) Carter, R. C. W. & Drury, A. N.; J. Physiol., 68, 1 (1929)

51) Peters, R. A. & Wakelin, R. W.; J. Physiol., 119, 421 (1953)

52) Peters, R. A.; Brit. Med. Bull., 9, 116 (1953)

53) Morris, D. L.; Science, 107, 254 (1948)

54) Axelrod, J.; Biogenic amines (Progress in brain resarch, 8), 81 (1964)

55) Aebi, H., Stocker, F. & Eberhardt, M.; Biochem. Z., 336, 526 (1963)

56) Izumi, F., Oka, M., Yoshida, H. & Imaizumi, R.; Life Sci., 6, 2333 (1967)

57) Nukada, T., Sakurai, T. & Imaizumi, R.; Jap. J. Pharmacol., 13, 124 (1963)

58) Itoh, T., Matsuoka, M., Nakazima, K., Tagawa, K. & Imaizumi, R.; Jap. J. Pharmacol., 12, 130 (1962)

59) Kopin, I. J. & Gordon, E. K.;J. Pharmacol., 140, 207 (1963)

60) Axelrod, J.; Pharmacol. Rev., 18, 108 (1966)

61) Potter, L. T. & Axelrod, J.; Nature, 194, 581 (1962)

62) Burn, J. H. & Rand, M. J.; J. Physiol., 144, 314 (1958)

63) Trendelenburg, U.; J. Pharmacol., 134, 8 (1961)

64) Matsuoka, M.; Jap. J. Pharmacol., 14, 181 (1964)

65) Spector, S., Kuntzman, R., Shore, P. A. & Brodie, B. B.; J. Pharmacol., 130, 256 (1960)

66) Costa, E., Cessa, G. L., Hirsch, C., Kuntzman, R. & Brodie, B. B.; Ann. N. Y. Acad. Sci., 96, 118 (1962)

67) Rindie, G., Perri, V. & Ferrari, P.; Z. Vitaminforsch., 24, 66 (1955)

68) 森　川　勤；日新医学，37，396 (1950)

69) 森　川　勤；新潟医学会雑誌，64，249 (1950)

70) 藤原元典，松井清夫；ビタミン，6，143 (1953)

71) Monta, I. & Gorn, V.; Fiziol. Norm. Patol., 10, 437 (1964)

72) Garland, H.; Brit. med. J., 2, 1287 (1955)

73) Rubin, A. & Babbott, D.; J. Amer. med. Ass., 168, 498 (1958)

74) Martin, M. M.; Lancet, 1, 560 (1953)

75) Berge, K. G., Sprague, R. G. & Bennet, W. A.; Diabetes, 5, 286 (1956)

76) 西川殷維，馬場明道，河村恒子，岩田平太郎；日本薬学会第９０年会発表 （１９７０年７月）

77) Boda, B. & Porte, K.; Diabetes, 16, 150 (1967)

78) Sutherland, E. W. & Rall, T. W.; Pharmacol. Rev., 12, 265 (1960)

79) Bueding, E., Butcher, R. W., Hawkins, J., Timms, A. W. & Sutherland, E. W.; Biochem. Biophys. Acta., 115, 173 (1966)