



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | セロトニンの吸収および遊出機作に関する研究   |
| Author(s)    | 柿本, 泰男  |
| Citation     | 大阪大学, 1959, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/28167">https://hdl.handle.net/11094/28167</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【 3 】

|           |                                   |
|-----------|-----------------------------------|
| 氏 名・(本籍)  | 柿 本 泰 男<br>かき もと やす お             |
| 学 位 の 種 類 | 医 学 博 士                           |
| 学 位 記 番 号 | 第 3 0 号                           |
| 学位授与の日付   | 昭 和 34 年 3 月 25 日                 |
| 学位授与の要件   | 医 学 研 究 科 内 科 系<br>学位規則第5条第1項該当   |
| 学位論文題目    | セロトニンの吸収および遊出機作に関する研究             |
|           | (主 査) (副 査)                       |
| 論文審査委員    | 教 授 金 子 仁 郎 教 授 市 原 硬 教 授 須 田 正 巳 |

論 文 内 容 の 要 旨

研 究 目 的

新しい神経体液物質として注目されたセロトニンの脳内での機能については多くの学説の発展をみた、ことに、Brodie は bound-serotonin 説によってレセルピンの鎮静作用を巧妙に説明し、さらに興奮、鎮静の過程におけるセロトニンの動態について注目すべき考え方を報告した。しかし仮定されたセロトニンの蛋白結合型の存在は実験的に証明されたわけではなく、彼の学説で説明できない二三の矛盾も指摘された。そこで著者はセロトニンの含量が高く、合成、破壊酵素を欠く家兎の血小板を実験対象にとり上げ、細胞内でのセロトニンの存在様式、細胞内へのセロトニンのとり入れおよび細胞から遊出について検討した。

実 験 方 法

成熟家兎の頸動脈から血液を採取し、シリコン油で処理した容器中で、低温で遠心分離を行い、血小板を集め、燐酸緩衝液をふくむリンゲリ液に浮遊せしめ、これにセロトニンを 0.1mM の濃度に加え、種々の物質を添加した。これを 37°C、1時間反応せしめた後、血小板を再び上記塩類溶液で洗浄、セロトニンの定量に供した。血小板内のセロトニンは、血小板を稀HClで破壊し、エチルエーテルで反応阻害物質を除き Udexbriend の方法によって比色定量した。

実 験 結 果

- 1) 血小板内の結合セロトニンの存在を以下の4つの実験から否定した。a) 血小板の燐酸緩衝液による抽出成分を汙紙電気泳動で分離すると、蛋白成分に結合したセロトニンは見出されず、抽出液中のセロトニンは合成セロトニンと同じ泳動速度を示す。
- b) 血小板ホモジネートのニトロセルローズ膜による限外汙液中にはホモジネートと等濃度のセロトニンをふくむ、c) 血小板ホモジネートを血漿を媒体として透析を行うと、透析内液のセロトニン濃度は外液と等しくなる。d) セロトニンの紫外部スペクトルは血小板蛋白の添加によって変化を受けない。

2) 血小板へのセロトニンの吸収は、結合によるのではなく active transport によるものであることを実証した。すなわち血小板は磷酸緩衝液をふくむリンゲル液中ではセロトニンを吸収しえないが、ブドウ糖、コハク酸などの呼吸基質や A.T.A の添加によって始めて、浮遊液中加入したセロトニンを細胞内にとり入れることができる。この呼吸基質の効果は、呼吸酵素系の阻害剤、酸化的磷酸化の脱共軛物質の添加によって、強力に阻害される。ブドウ糖の呼吸促進効果は 4°C では起らない、この呼吸反応は約 10 倍の濃度勾配にさからって行われる。以上の事実は血小板へのセロトニンのとり入れが active transport によるものである条件をほぼ満足し、セロトニンの親和性を有する物質との結合をもって説明することはできない。

3) セロトニンの releaser として知られているレゼルピンは、in vivo の条件に相当する濃度 ( $5 \times 10^{-7} M$ ) で、A.T.P によって促進されたセロトニンの active transport をほとんど完全に阻害する。しかし吸収を阻害する他の阻害剤には血小板内のセロトニンを遊出せしめる能力はない。またレゼルピンによる遊出も 4°C ではみられない。これらの事実からレゼルピンによる細胞内セロトニンの遊出は active transport の一方的遮断による passive diffusion によっては説明できない。また構造類似物質によるセロトニンの active transport における拮抗実験を行い、インドール核の 5 位の水酸基が重要な役割を果たすことが明らかとなった。

#### 総 括

1) Brodie らの仮定した血小板結合セロトニン存在を否定した。

2) 血小板によるセロトニンのとり入れは、エネルギー代謝と共軛した active transport であることを証明した。この際直接のエネルギー供与体は A.T.P であると考えられる。

3) 血小板よりのセロトニンの releaser として知られるレゼルピンは active transport を強く阻害することを知った。しかし active transport を強く阻害する呼吸酵素系の阻害剤や酸化的磷酸化の脱共軛物質には release 作用がないから release の機作を active transport の一方的阻害に求めることはできない。

4) active transport における構造類似物質による拮抗実験を行い、とり入れ機作には 5-ハイドロキシインドールの構造が重要な意義を有することを知った。

### 論文の審査結果の要旨

#### 目 的

セロトニンは脳内の神経刺激伝達物質の 1 つと見なされ、他の伝達物質と同様に組織内で結合型で存在すると考えられた。Brodie は結合セロトニン説でレセルピンの鎮静作用を巧妙に説明し、さらに興奮鎮静の過程におけるセロトニンの動態について注目すべき考え方を報告した。

しかし仮定されたセロトニンの蛋白結合型の存在は実験的に証明されたわけではなく、この学説で説明できない 2, 3 の矛盾も指摘された。

そこで著者はセロトニンの含量が高く、合成分解酵素を欠く家兎の血小板を実験対象としてとり上げ、細胞内でのセロトニンの存在様式、細胞内へのセロトニンのとり入れ、および細胞からの遊出の機作について検討した。

## 方 法

成戦家兎の頸動脈から血液を採受し、遠心分離法で血小板を調整した。セロトニンの定量は Udnfriend の方法を変法して用いた。

## 結 果

- 1) 血小板内の結合セロトニンについては、以下の4つの実験からほぼ否定的結論を得た。
  - a) 血小板内のセロトニンと蛋白分割は濾紙電気泳動で分離し、全く異った方向に泳動する。
  - b) 血小板のホモジネートの限外濾液中にはホモジネートと等濃度のセロトニンをふくむ。
  - c) 血小板ホモジネートを血漿を媒体として透析すると透析内外液中のセロトニン濃度はほぼ等しくなる。
  - d) セロトニンの紫外吸収スペクトルは血小板蛋白の添加によって変化しない。
- 2) 血小板へのセロトニンの‘とり入れ’は結合によるのではなく **active transport** によるものであることをつぎの実験から明らかにした。
  - a) 血小板は塩類溶液に浮遊した状態では、浮遊液中に加えたセロトニンを吸収しない。
  - b) ブドウ糖、コハク酸を添加すると吸収が起る。
  - c) ブドウ糖のセロトニン吸収促進効果はブドウ糖の酸化酵素系の阻害剤や、酸化的磷酸化の阻害剤によって抑制される。
  - d) ATP はブドウ糖と同様にセロトニンの吸収を促進する。
  - e) 吸収は 4°C では起らない。
  - f) 以上の吸収は約10倍の濃度勾配に逆らって行われる。
- 3) 細胞内のセロトニンの **releaser** であるレセルピンは  $5 \times 10^{-7}M$  の濃度で、ブドウ糖、ATP によって起されたセロトニンの **active transport** を著明に阻害する。

## 考 察

著者は上の実験によって、従来結合セロトニンの仮説によって説明されて来たセロトニンの血小板への‘とり入れ’機作が **active transport** によるものであることを実験的に証明した。この研究によってアミンの **active transport** の機作が初めて明らかになり、さらに著者らによって引続き行われたカテコールアミンの **active transport** の解明の手掛りをつくった。

そして従来、神経系における神経刺激伝達物質の作用を説明するためにつくられた結合型の概念に、新しい考え方を導入し、新たな研究方法を確立することに貢献するものと期待される。