Osaka University Knowledge Archive

Title	カテコール体の分離と定量に関する研究
Author(s)	中島, 一彦
Citation	大阪大学, 1960, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28195
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【47】

氏　名・(本籍)	中島一彦（なかじま かずひこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 111 号
学位授与の日付	昭和35年3月25日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**カテコール体の分離と定量に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 今泉 礼治　(副査) 教授 市原 硬　教授 吉川 秀男

論文内容の要旨

目　的

近年生体内カテコールアミンの意義に関しその重要性が各方面に於いて認められ，数多くの研究がなされている。然し乍ら生体内に存在するカテコール体は，その存在する濃度が極めて低く，且つ，性状の極めて類似せるものが互に共存するのを常とする。これらカテコール体をその各々につき個々にその消長を検する為にはその分離を行う必要のあることを認め，イオン交換樹脂によるカテコール体の分離並びに螢光法による定量の研究を行い，尿中に排泄せられるカテコールアミンの諸種薬物による変化，並びに脳組織によるカテコールアミン生成に関する実験を行った。

方　法

（1）尿中カテコール体の分離，酸化アルミニウムにより精製濃縮せる試料を Duolite C-25 の Column に通じ，酸性カテコール体，中性カテコール体，Adrenaline+Noradrenaline, Dopamine の四つの fraction に分別溶離する。即ち，酸性カテコール体はその漏出液に，中性カテコール体は，0.35, pH5.0 の酢酸 Na- Buffer 溶出液に Adernaline 及び Noradrenaline は 7% に Ethanol を含有する 3.0N, pN6.0の酢酸 Na-Buffer 溶出液に，又 Dopamine は 25% に Ethanol を含有する 3.0N, pH6.0の酢酸 Na-Buffer 溶出液にそれぞれ分離して溶出される。

酸性カテコール体はこの漏出液を更に，塩基性イオン交換樹脂 Dowex lx2の Column を用い，pH 4.5 の 0.5M, 1.0M, 3.0M の酢酸 Ammonium-Buffer により分離を行った。

（2）脳組織中カテコール体の分離，液体窒素に投入致死せしめたモルモットの全脳を速かに取出し，これを酸性 Ethanol にて抽出除蛋白を行い，この抽出液を上記同様 Duolite C-25 の column にてカテコール体の分離を行い，定量した。Reserpine 投与後の脳組織中カテコールアミンの変化並びに Reserpine 処理後 DOPA 投与によるその恢復，各種興奮薬（Caffeine, Methamphetamine）並びに麻痺薬（Ure-

than, Barbiturate, Chlorpromazine）投与後のカテコールアミンの変化につき検討した。

（3）in vitroの実験：モルモット脳 Homogenate を酵素材量とし，Ringer 氏液中にて，DOPA を基質として anaerobic に，Dopamine を基質として Iproniazid 添加，aerobic にそれぞれ 37°C に於いて反応せしめその反応液を除蛋白後上記の方法にて分離し定量を行った。

（4）カテコール体の定量，DOPA は THI 法により酸性カテコール体及び Adrenaline, Noradrenaline, Dopamine は ED 法によりそれぞれ螢光々度計により測定し定量を行った。尿中カテコールアミン分離の場合，Adrenaline と Noradrenaline が混在している時には，二種の Filter set を用い，その各々における螢光々度の比の相違により算出した。

結　　果

酸化アルミニウム及び強酸性イオン交換樹脂 Duolite C-25 を用いて，カテコール体を分離し螢光法による測定と併用することにより個々のカテコール体を分離定量する事に成功した。非水解24時間正常人尿中のカテコールアミン量は，Adrenaline 14.4ng/min. Noradrenaline 28.2 ng/min. Dopamine 118.5ng/min. で，治療中の高圧症患者の Noradrenaline 量は 15.2 ng/min. と正常人尿の値より低いことを認めた。又人尿中に含有せられる酸性カテコール体は，塩基性イオン交換樹脂 Dowex lx2 の使用により四ケの物質に分離せられることを見出した。脳組織に含まれるカテコールアミンは Reserpine の投与により，Noradrenaline, Dopamine 共著明に減少しこの減少せるカテコールアミン量は DOPA の投与により速かに恢復することを認めた。この際，脳組織に於いても副腎髄質と同様に DOPA を母質としてこれらカテコールアミンが生成せられるか否かを検する目的を以って行った in vitro の実験により DOPA より Dopamine が，Dopamine より Noradrenaline がそれぞれ生成せられることを認めた。

各種薬剤投与後の脳中カテコールアミン量には認むべき変化は見出せなかった。

総　　括

1. Duolite C-25 を用いて，尿中及び脳組織中カテコール体を分離した。
2. Dowex lx2 により尿中に排泄せられる酸性カテコール体を分離し，これが四つの物質に分離されうることを見出した。
3. 諸種薬物投与後の脳中カテコール体の変化に付き検討し，Reserpine のみが脳組織中のカテコールアミンを著明に減少せしめ，これは DOPA によって恢復することを認めた。
4. in vivo 及び in vitro の実験成績より脳組織に於いては，DOPA を母質としてカテコールアミンが生成されることを見出した。

論文の審査結果の要旨

近年生体内カテコールアミンに関する多くの研究が行われ，その定量も螢光法の使用によりかなり低濃度の場合に於ても可能となった。然し，螢光法はその特異性が低く，これを使用する際には類似物質の分離を行う必要があり，この目的の為に従来より各種のイオン交換樹脂が用いられている。

著者は強酸性イオン交換樹脂 Duolite C-25 を用いてカテコール体の分離を試み，比較的容易にその分離を行う方法を見出した。この新しい方法を用いて，正常人尿，高血圧症患者尿及び NH_4Cl 連続投与

モルモット尿中カテコールアミン量を定量した結果，血流中カテコールアミン量を増加せしめるとされている所の NH_4Cl 連続投与モルモットの場合にはカテコールアミン排泄量は明らかに増加していることを認めたが，高血圧症患者の場合は，アドレナリンのみが若干増加し，ノルアドレナリンはむしろ減少を示したが，この点については，患者が採尿時既に治療中であったためその影響が現われているものと考えられる。

同じ方法を用いてモルモット脳組織に含有せられるカテコール体を分離定量し，鎮静薬（Urtethane, Barbital, Chlorpromazine）興奮薬（Caffeine, Methamphetamine）投与の際の脳内のカテコール体の消長を検したが，薬剤投与により示した動物の状態の変化の度合に比し，著明なる変化は認められなかった。更に Reserpine 投与により脳内カテコールアミンはドーパミン，ノルアドレナリン共著明に減少し，この減少したカテコールアミンは，ドーパの投与によってのみ速やかに恢復することを認めた。この Reserpine の作用は Iproniazid. 前処置により全く消失し，脳内カテコールアミン量は正常より若干高い値を示した。以上の Reserpine 投与による一連の実験の場合には，脳内カテコールアミンの消長は動物の興奮鎮静の状態と全く平行関係を呈し，他の鎮静薬，興奮薬投与の際とは全く趣を異にする結果を得た。然し乍ら脳内に於いてカテコールアミンも，アセチールコリン及びセロトニンと同様，活性形と不活性形の両形が存在するものと考えられるが，その中活性形のみが生理的な意義を有するものとすれば，カテコールアミン総量は不変でも活性形の多少によって動物の状態が変化することは当然考えられる所で，脳内カテコールアミン量の増減を以って直ちに興奮鎮静現象を論ずることは困難であり今後大いに検討を要する問題である。

更に Reserpine 投与モルモット脳内カテコールアミンがドーパ投与により恢復する事実から脳組織はドーパよりカテコールアミンを形成し得ることを in vitro で実験証明した。

以上の実験より興奮鎮静，特に Reserpine 作用発現には脳内カテコールアミンの消長が有意義なる点を指摘した事は今後の興奮鎮静なる現象を解明する上に大きな示唆を与える有益な論文である。