

Title	カテコールアミンの輸送機作に関する研究（Ⅰ） （Ⅱ）
Author(s)	谷口, 和覧
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28312
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 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	谷 口 和 覧 たに ぐち かず み
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 177 号
学位授与の日付	昭 和 36 年 3 月 23 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	カテコールアミンの輸送機作に関する研究 (I) (II)
論文審査委員	(主 査) (副 査) 教 授 金 子 仁 郎 教 授 今 泉 礼 治 教 授 須 田 正 巳

論 文 内 容 の 要 旨

目 的

神経刺激の化学的伝達の場合、chemical mediator の細胞内存在様式ないし存在部位と生理学的機能とは密接な関係があり、従って nerve transmitter の輸送の機構は神経活動を規定する重要な因子であると思われる。演者らは nerve transmitter に擬されて注目されている芳香族アミンの輸送の問題をとりあげさきに柿本と協同して家兎血小板についてモデル実験を行いセロトニンが能動輸送の機作で血小板内にとりこまれることを認めたが、カテコールアミンについて検討するため、まず前回と同様に家兎血小板について、つづいて脳組織について各細胞膜でのカテコールアミンの輸送の機構を検討した。

方法並びに成績

A. 家兎血小板のアドレナリン (AD) およびノルアドレナリン (NA) 吸収について家兎動脈血より遠心分別で血小板を分離し、Ca をはぶいた Krebs-Ringer 燐酸緩衝液に浮遊し、*l*-AD または *l*-NA、ブドウ糖または他の力源、阻害剤または構造類似物質を加え、空气中で 1 時間 37°C で incubate した。終了後血小板を 3 度洗い血小板内のアミンを Shore & Olin の方法で抽出し、Euler による Trihydroxyindol 反応後生じた螢光を測定して定量した。全操作はシリコン処理した器具で行った。

1. 血小板の AD のとりこみはブドウ糖、ピルビン酸、酢酸+ATP、 α -ケトグルタル酸、フマル酸の添加で増加するが、コハク酸、乳酸、ATP はとりこみを促進しなかった。NA のとりこみは上記各物質のほかコハク酸、ATP の添加で増加した。いずれの場合にも incubation 後には細胞内濃度はメディアウムでの濃度を上廻り濃度勾配に逆らったとりこみをもとめた。

2. AD のとりこみは DNP, NaF, ヨード酢酸によって強く阻害されるがセロトニンのとりこみを強く阻害する KCN, NaN₃ の阻害効果は AD の場合には微弱である。NA のとりこみは各阻害剤のいずれによっても阻害された。また芳香族アミンの releaser として知られるレセルピンは低濃度で NA, AD

のとりこみを著明に阻害した。

3. AD, NA のとりこみはともに芳香核を有するアミンによって阻害され、また1-フェニル、-2-メチルアミノプロパン (ヒロポン) は AD のとりこみを拮抗的に阻害することをみとめた。

B. 脳スライスの NA 吸収について

モルモット全脳をスライスとしモノアミン酸化酵素阻害剤である I I H と30分間 preincubate した後に *l*-NA とブドウ糖または他の基質、種々の阻害剤または構造類似物質を加え O₂ ガス飽和下に30分、37°C で incubate した。終了後スライスを3度洗い、スライス内 NA を酸エタノール抽出、アルミナ吸着、酢酸による回収の操作で精製し、Euler による THI 反応後生じた蛍光を測定して定量した。

1. 37°C で incubate するとスライス内 NA 濃度は30分間で最大となり、スライスと浮遊液間の NA 濃度勾配は逆転した。氷水中で反応させた場合はスライス内 NA 濃度は15分で最大となるが37°C の場合と比較するととりこまれた NA は少く、また浮遊液内濃度にも達しない。

2. メデイウムを酸素ガスで飽和するとスライスの NA のとりこみは著明に増加した。

3. 37°C で incubate した場合のスライスえのとりこみを最大とさせる NA の反応開始時の終末濃度は 5 μ g/ml であるに反し、氷水中で incubate した場合のスライスえのとりこみは濃度と比例して増加した。

4. *l*-および *dl*-NA を用いて光学活性によるとりこみの差異を検討すると37°C で incubate した後のスライス内 NA 濃度は *l* 型添加の場合には *dl* 型添加の場合の約1.5倍であった。一方氷水中で incubate した場合には NA のとりこみに光学活性による差をみとめなかった。

5. 浮遊液から Na, K を除去すると NA のとりこみは低下し Ca を省いた Krebs-Ringer 磷酸緩衝液内で高いとりこみを示した。また K, Ca, NH₄ 添加によっても NA のとりこみは低下した。

6. ブドウ糖, ピルビン酸は NA のとりこみを増加させた。ATP 添加もとりこみを軽度に促進した。他の糖代謝中間物質, グルタミン酸についてはとりこみに対する促進効果をほとんどみとめなかった。

7. DNP その他の代謝阻害剤はいずれも NA のとりこみを低下せしめた。レセルピンの添加は血小板の場合と異り, NA のとりこみを阻害しなかった。

8. 他のカテコール化合物, ことにカテコールアミンは NA のとりこみを強く阻害するがインドール核をもつアミンには阻害作用をみとめなかった。

総 括

血小板は AD, NA をそれぞれ独立した輸送機作でメデイウムより細胞内にとりこむことが結論され、このとりこみには energy donor が必要なこと、代謝阻害剤でとりこみが阻害されること、構造類似物質によってとりこみが阻害されることなどからとりこみの機構は物理的なものでなく、生物学的機作によるエネルギー代謝と共軛した能動輸送により行われることが証明された。つぎに脳スライスを用いた実験の結果、脳細胞膜にも *l*-NA に特異性をもつ酵素系があり、この酵素系が好氣的エネルギー代謝と共軛しつつ能動輸送の機作のもとに NA を細胞内にとりこむと推定された。また浮遊液のイオン組成は脳スライスの代謝を変化させたがって各イオンは *in vivo* で脳の機能的状態を大きく規定すると考えられるが、同時に NA 吸収をも変化させることから脳細胞膜でのアミンのとりこみの機作は脳の機能的状態に相関しつつ脳細胞のアミン含量やアミンを介する脳機能の調節に関連しているものと思われる。

論文の審査結果の要旨

神経刺激の化学的伝達物質の細胞内存在様式ないし存在部位と生理学的機能とは密接な関係があり、従って各物質の輸送の機構は神経活動を規定する重要な因子であると思われるのでカテコールアミンをとり上げ、先ず家兎血小板について、つづいて脳組織について各細胞膜でのカテコールアミンの輸送の機構を検討し以下の結果を得た。

A. 家兎血小板のアドレナリン(AD) およびノルアドレナリン (NA) 吸収について

1. 血小板の AD のとりこみはブドウ糖, ピルビン酸, 酢酸 + ATP, α -ケトグルタル酸, フマル酸の添加で増加した。NA のとりこみは上記各物質のほかコハク酸, ATP の添加でも増加した。いずれの場合にも incubation 後には細胞内濃度はメデイウムでの濃度を上廻った。

2. AD のとりこみは DNP, NaF, ヨード酢酸によって強く阻害されるがセロトニンのとりこみを強く阻害する KCN, NaN_3 の阻害効果は AD の場合には微弱である。NA のとりこみは各阻害剤のいずれによっても阻害された。またレセルピンは低濃度で NA, AD のとりこみを著明に阻害した。

3. AD, NA のとりこみはともに芳香核を有するアミンによって阻害され、またフェニルメチルアミノプロパン(ヒロポン)は AD のとりこみを拮抗的に阻害した。

B. 脳スライスの NA 吸収について

1. 37°Cで反応させるとスライス内 NA 濃度は30分間で最大となり、スライスと浮遊液間の NA 濃度勾配は逆転した。氷水中で反応させた場合はスライスの NA 濃度は低く浮遊液内濃度に達しない。

2. メデイウムを酸素ガスで飽和するとスライスの NA のとりこみは著明に増加した。

3. 37°Cで incubate した場合のスライスえのとりこみを最大とさせる NA の反応開始時の終末濃度は 5 $\mu\text{g/ml}$ であるに反し、氷水中で incubate した場合のスライスえのとりこみは濃度と比例して増加した。

4. *l*-および *dl*-NA を用いて光学活性によるとりこみの差異を検討すると37°Cで incubate した後のスライス内 NA 濃度は *l* 型添加の場合には *dl* 型添加の場合より大であった。一方氷水中で incubate した場合には NA のとりこみに光学活性による差をみとめなかった。

5. 浮遊液から Na, K を除去すると NA のとりこみは低下し Ca を省いた Krebs-Ringer 燐酸緩衝液内で高いとりこみを示した。また K, Ca, NH_4 添加によっても NA のとりこみは低下した。

6. ブドウ糖, ピルビン酸は NA のとりこみを増加させた。他の糖代謝中間物質, ダルタミン酸についてはとりこみに対する促進効果をほとんどみとめなかった。

7. DNP その他の代謝阻害剤はいずれも NA のとりこみを低下せしめた。レセルピンの添加は血小板の場合と異り, NA のとりこみを阻害しなかった。

8. 他のカテコール化合物, ことにカテコールアミンは NA のとりこみを強く阻害するがインドール核をもつアミンには阻害作用をみとめなかった。

このような結果から血小板は AD, NA をそれぞれ独立した輸送機作でメデイウムより細胞内にとりこむことが結論され、このとりこみには energy donor が必要なこと, 代謝阻害剤でとりこみが阻害されること, 構造類似物質によってとりこみが阻害されることなどからとりこみの機構は物理的なものでな

く、生物学的機作によるエネルギー代謝と共軛した能動輸送により行われることが証明された。つぎに脳スライスを用いた実験の結果、脳細胞膜にも ℓ -NA に特異性をもつ酵素系があり、この酵素系が好氣的エネルギー代謝と共軛しつつ能動輸送の機作のもとに NA を細胞内にとりこむと推定された。また浮遊液のイオン組成は脳スライスの代謝を変化させたがって各イオンは脳の機能的状態を大きく規定すると考えられるが、同時に NA 吸収をも変化させることから脳細胞膜でのアミンのとりこみの機作は脳の機能的状態に相関しつつ脳細胞のアミン含量やアミンを介する脳機能の調節に関連しているものと思われる。