

Title	アドレナリソ感作々用の本態に関する研究 特にカテコール誘導体, コカイン及びエフェドリンによる感作々用に就いて
Author(s)	橋本, 裕一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28415
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

【 28 】

氏名・(本籍)	橋 本 裕 一 はし もと ゆう いち
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 297 号
学位授与の日付	昭 和 37 年 3 月 26 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	アドレナリン感作々用の本態に関する研究 特にカテコール誘導体、コカイン及びエフェドリンによる 感作々用に就いて
論文審査委員	(主 査) (副 査) 教 授 今 泉 礼 治 教 授 須 田 正 己 教 授 吉 井 直 三 郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

Catecholamine (CA) 特に Circulating CA 代謝はまず Catechol O-Methyl Transferase (COMT) によって核の 3 位の Methylation が起り、次いで Monoamine Oxidase (MAO) によって Deamination せられるという Major Pathway が確かめられて、MAO に代って COMT の役割が CA の不活化と代謝に重視せられるにいたった。また近時、重要な非酵素的の不活化過程として CA の細胞あるいは組織への Uptake が問題となっている。そこで従来 Adrenaline (Ad) の酸化を抑制するためと考えられていた Catechol およびその誘導体による Ad 感作作用、さらに MAO の阻害によると解釈せられていた Cocaine および Ephedrine の Ad 感作作用をこの新しい知見から再検討し、その Ad 感作作用機構を明らかにせんとした。

〔方法並びに成績〕

A) 生体内 Ad 代謝関連酵素から観た Ad 感作作用。

(I) COMT による Metanephrine (MA) 生成におよぼす各種物質の影響に関する実験。

〔方法〕: Rat Liver を 4 倍量の Isotonic KCl で homogenize しこれを 78,000×g, 30 分間超遠沈してその上清を粗酵素材料として用いた。Thunberg 管を用いて酵素材料 (0.6 ml) に 1-Ad (0.5 μ mol. , MgCl₂ (20 μ mol.) , S-Adenosyl-1-Methionine (0.5 μ mol.) , Tris-Buffer. pH 7.8 (100 μ mol.) および各種物質 (Cocaine, Ephedrine, Procaine は 2.0 μ mol. その他は 0.5 μ mol.) を加えた全量を水で 2.0 ml とし、37.5°C で 30 分間 Anaerobic Condition で incubate した。生成された MA は Pisano の方法に準じて定量した。

〔成績〕: (a) Cocaine, Ephedrine, Procaine, Hydroquinone Gentisic acid および Phloroglucin は MA 生成に影響を与えなかった。(b) Catechol およびその誘導体, Rutin, Quercetin 等は程度の差はあるが、いずれも MA 生成を抑制した。

(II) COMT による Gentisic Acid, Homogentisic Acid および Hydroquinone の Methylation に関する実験

〔方法〕：上述物質 (0.6 μ mol.) に粗酵素材料 (1.0 ml), MgCl₂ (40 μ mol.), S-Adenosyl-1-Methionine (0.5 μ mol.) および Tris-Buffer pH 7.8 (250 μ mol.) を加え全量を水で 3.0 ml とした後 37°C, 2時間 Anaerobic Condition で incubate し, 阪本らの方法にならって Methylated Substance を Benzen 層に抽出した。Benzen を evaporate した後, 残渣を 0.5M Phosphate Buffer (pH 7.2) に溶出し, これに Folin 反応を行なった。

〔成績〕：いずれも S-Adenosyl-1-Methionine を添加して incubate したものの Folin 値が添加しない Control に比べて高い値を示した。S-Adenosyl-1-Methionine は, Folin 陽性物質でないので Folin 値の差はそれぞれの Methylated Substance によるものと考えられる。

(III) Ad の家兎血圧上昇作用および家兎耳殻血管収縮作用におよぼす Pyrogallol, Catechol 誘導体並びにその構造類似物質の影響に関する実験。

(I) 家兎血圧実験。

〔方法〕：体重 2.5~3 kg の健常成熟雄性家兎を, Urethan 麻酔下で型のごとく prepare し, その頸動脈を水銀マンオメーターに連続し, 血圧の変化を煤煙紙上に描かしめた。各物質は頸動脈から注入した。

〔成績〕：無作用量の Pyrogallol の注入後, Ad の血圧上昇作用は増強された。その増強度は, Pyrogallol 処置後 12~15 分で多くの場合最大となりその後漸次減少した。なお Pyrogallol は Monohydroxyphenyl 誘導体である Synephrine の血圧上昇作用には無影響であった。

(II) 家兎耳殻血管灌流実験。

〔方法〕：Krawkow-Pissemiski 氏法により行った。即ち Mariotte 瓶よりの Locke-Ringer 氏液 (pH 6.2) を 37~38°C に加温して灌流せしめ, これに試料の 0.1~1.0 ml を可及的等速度で接続ゴム管より注入した。試料の pH は 6.2 前後にして注入したが, この調整の困難なる場合は前処置によってその効果を判定した。

〔成績〕：(a) Hydroquinone は Synephrine の血管収縮作用に対しては無影響の濃度で Ad のその作用を増強した。Hydroquinone = Gentisic Acid < Dihydroxyphenyl Acetic Acid < Pyrogallol の順に Ad 感作用度は大となり, この結果は (I) の in vitro における実験結果と一致した。(b) COMT の cofactor である Mg⁺⁺, Co⁺⁺ の前処置によって Ad 血管収縮作用を減弱したが, 通常約 30 分後には正常に戻った。なおこれら 2 価イオンは Synephrine および BaCl₂ による血管収縮作用に対しては無影響であった。

(B) 生体内 Ad-Uptake の変化より観た Ad 感作用。

〔方法〕：体重 2.5~3 kg の健常雄性家兎の血液を頸動脈から 3.8% クエン酸ソーダを入れた容器にとり, 800 rpm で 30 分遠沈して上清をとる。この血小板を含んだ血漿をさらに 4,000 rpm で 40 分間遠沈し血小板のみを集め, これを Phosphate Saline 溶液 (pH 7.2) 中に浮遊せしめ実験に使用した。反応は血小板浮液 2.0 ml, 1-Ad (200 γ /ml) 0.2 ml, 各種薬剤を 0.1 ml 加え Phosphate Saline 溶液にて全量を 2.5 ml とし, 37.5°C で 90 分間, Aerobic Condition で incubate した。反応終了後 2.0 ml の Cold Phosphate Saline 溶液を加えて反応を停止せしめ 4,000 rpm で 40 分間遠沈し血小板を集めて一回 Phosphate Saline 溶液で

洗った後、デシケーターで減圧乾燥せしめこれに *n*-Butanol を加えて血小板中の Ad を抽出する。次いで Ad を HCl 層へ抽出した後 THI 法によって定量した。

〔成績〕：(a) Ad の血小板への取り込みは所謂代謝阻害剤で抑制せられたので、この過程は代謝系と共働した Active Transport であると考えられる。(b) またこの取り込みは Noradrenaline, Oxytyramine において見られたが DOPA では極めて少なかったので芳香族アミンにかなり特異的なものであろう。(c) Ad の取り込みは, Cocaine, Ephedrine および Procaine の添加でいずれも抑制せられた。その阻害作用は Procaine に比べ Cocaine, Ephedrine の方が遙かに強力であった。

〔総括〕

Circulating CA の不活化機構に関する最近の知見に基いて今日迄不明とせられていた Catechol, その誘導体, Cocaine および Ephedrine による Ad 感作用機構を明かにした。即ち Catechol およびその誘導体による Ad 作用増強は *in vitro* 実験成績の一致からみて明かなごとく主としてこれら物質の COMT に対する拮抗阻害によるものである。また Hydroquinone および新しく見出された Gentisic Acid による Ad 感作用も一因として COMT による Ad 不活化過程と関係があると思われる。一方血小板を Storage Site と見なして行ったモデル実験において Cocaine, Ephedrine および Procaine が CA の血小板への Active Transport を阻害した事実からこれら物質による Ad 感作用は, Storage Site への Uptake による不活化が阻止せられたため不活化をまぬがれた多量の Ad が Ad-Receptor に到達するために惹起せられると考えらるべきである。

論文の審査結果の要旨

Adrenaline の作用発現とその代謝との関係を追求するための緒口を提供するものとして、各種物質による Ad 感作用という現象はきわめて重要かつ興味あるものである。

今日迄、Adrenaline の代謝は、主として Monoamine oxidase によってなされると考えられ、Cocaine, Ephedrine による Ad 感作用も Monoamine oxidase との関係において説明されてきたが、これに対する反対意見も多く、その機作はなお不明の点を残していた。最近アイソトープによる実験が盛んに行われるようになり、circulating Catecholamine の代謝はまず Catechol-0-methyltransferase によって核の 3 位に methylation を受けることが明らかにされ、active Catecholamine の不活化に関して Monoamine Oxidase に代って Catechol-0-methyltransferase の意義が重視されるにいたった。以上の酵素的不活化の他に Catecholamine が一定部位に Storage されて Catecholamine Receptor に到達せず、従ってその作用を出現しないような Catecholamine の存在形式のあることも知られるようになってきた。

著者は最近の Catecholamine 不活化機構に関する新しい知見に基いて、今日まで不充分なる説明しか与えられていなかった Catechol 誘導体, Cocaine および Ephedrine の Adrenaline 感作用機構を再検討した。その結果 Catechol 誘導体による Adrenaline 作用増強は、詳細なる *in vitro* および *in vivo* の実験成績から明かなごとく、主としてこれら物質の Catechol-0-methyltransferase に対する拮抗阻害によることを立証した。

さらに Catechol-0-methyltransferase によって Catechol 誘導体以外の Hydroquinone, Gentisic acid お

よび Homogentisic acid もまた methylation せられるのではないかということをおよび in vitro および in vivo の実験成績から示唆したが、この事実は、この分野の研究者にとってはなほだ興味あるものと思われる。一方 Catechol-O-methyltransferase の Activity には何等影響を与えなかった Cocaine, Ephedrine および Procaine の Adrenaline 作用増強については、血小板を Storage Site と見做して実験し、この in vitro における Adrenaline の血小板への取り込みの阻害度と今までに知られている Cocaine および Procaine の Adrenaline 感作用増強度とが明かに一致した事実から、これら物質の感作用は、所謂 Storage Site への取り込みによる Adrenaline の不活化を阻止するために惹起せられるものと考えた。

Catechol 誘導体, Cocaine および Ephedrine による Adrenaline 感作用機構についての上述の説明は、今日までになされてきたいくつかの解釈よりもすぐれていると考え得る。

以上、Adrenaline 感作用機構を、生化学的方法によって明かにされた、新しい Adrenaline 代謝機構から検討し直し、いくつかの不明の点を明らかにしたこと、並びに生物学的方法を加味することによって、Adrenaline 作用発現過程における Catechol-O-methyl transferase の生理学のおよび薬理学的意義を論じた点は、高く評価されてよいと思う。同時にこの研究は、今後の生化学的薬理学の進むべき一つの方向を提示するものと考えられる。