



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | Sandler氏による尿中3-methoxy-4-hydroxymandelic acid (Vanillylmandelic acid, VMA) 定量法の改善と該物質定量の意義  |
| Author(s)    | 三宅, 宏   |
| Citation     | 大阪大学, 1963, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/28475">https://hdl.handle.net/11094/28475</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

|              |   |
|--------------|---|
| 氏名・(本籍)      | 三 宅 宏   |
| 学位の種類        | 医学博士  |
| 学位記番号        | 第 407 号   |
| 学位授与の日付      | 昭和38年3月25日  |
| 学位授与の要件      | 生理医学系研究科  |
| 学位規則第5条第1項該当 |   |
| 学位論文題目       | <b>Sandler 氏による尿中 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid (Vanillylmandelic acid, VMA) 定量法の改善と該物質定量の意義</b> |
| (主査)         | (副査)  |
| 論文審査委員       | 教授 今泉 今治 教授 吉井直三郎 教授 坂本 幸哉  |

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

現在 VMA は epinephrine (E), norepinephrine (NE) の安定した主要終末代謝産物と考えられており尿中に該物質を定量することは生体内のこれら catecholamine の level を知る間接的手段と考えられているが著者は Sandler 氏による定量法に分析並びに検討を加え、併せて尿中 VMA 定量の意義を論すべく数種の実験条件下に該物質及びその関連物質を定量せんとした。

## 〔方法並びに成績〕

## A) 定量法の改良

Sandler 氏原法における VMA fraction には VMA 以外の干渉物質（本定量法では例えはブドウ糖, vanillin 等）が同時に混在した時には定量の最終段階において誤った高い値を測定することを Dowex 1x2 column fractionation, paperchromatography 及び可視部吸収曲線の成績から指適し、column 及び溶出段階の条件を変えて column の直径を 0.5cm 長さを 10.0cm とし、尿を charge した後水洗に続いて  $\frac{M}{4}$  及び  $MNH_4Ac$  緩衝液 (pH4.8) で二段階で展開すると、他の夾雜物から分離されて尿中 VMA が  $MNH_4Ac$  緩衝液中に溶出されるものであり、其後の VMA の Vanillin (V) への化学的変換操作を経過すると indole の発色の段階ではもはや原尿中に存在した VMA に由來した V のみが定量されるものであることを同様に paperchromatography 及び可視部吸収曲線の成績から結論した。著者により改良された方法は次の如し。 ① 尿 2ml を Dowex 1x2 (0.5x10.0) column に charge ② 5~10ml の水で水洗 ③ 30ml の  $MNH_4Ac$  緩衝液で溶出（この fraction は不要） ④ 10ml の  $MNH_4Ac$  pH 4.8 緩衝液で VMA fraction を溶出 ⑤ VMA を醋酸エチルに抽出後減圧濃縮乾固 ⑥ 5% 硫酸 2.5ml に溶出し 0.2g 活性化  $Al_2O_3$  を触媒とし autoclave 中で V に化学的変換 ⑦ 2.4ml の正磷酸、0.1ml のインドール試薬の混合液に上記試料の上清 1.5ml を加え混和後 3 分目に  $495m\mu$  における optical density

を測定し、V 2.5 $\mu$ g/ml 溶液を用いた場合の optical density と比較し VMA 絶対量を次式により計算する。

$$\frac{\text{Test-Buffer Blank}}{\text{Standard-Blank}} \cdot 8.15 = \mu\text{g VMA}/2\text{ml. Buffer Blank} \quad \text{には} ⑤ \text{の段階で} 10\text{ml} \text{の M 緩衝液}$$

を直接抽出段階にかけ以上記方法により調整された試料を、Blank には 5% 硫酸を夫々 Test sample の代りに用いた。

#### B) 尿中 VMA 定量の意義

人尿及び家兎尿には VMA の硫酸並びに glucuron 酸抱合体はないことをたしかめた上で20名の正常成人における1日 VMA 排泄量は平均 3.7mg を測定し、一定時間における VMA 排泄量は昼間が夜間の1.5~2.0倍であることを示した。分娩前後の分時尿において VMA 排泄量の推移を検索し、分娩前十数時間は VMA 排泄量は正常排泄量以下に減少し分娩時から次第に増加し、分娩後2.5~3.0時間の30分間に分娩前排泄量の約20倍の排泄を見、E, NE, metanephrine (MA) 及び normetanephrine (NMA) を同一尿材料で定量した結果分娩時に娠婦体内における E level が最高であることを指示する成績を得た。更に実験的に家兎に insulin, alloxan, 甲状腺製剤及び acetylcholine を投与した際の VMA 及び MA, NMA 群の尿中排泄增加は前三者においては主に E の増加を伴い acetylcholin 投与の場合には主に NE が増加していたことから、これらの場合の VMA の尿中排泄量の増加は E か NE 或はそれらの両方の排泄量の増加を裏書きするものであろうとの結論に達した。

#### 〔総括〕

尿中 VMA 定量 Sandler 氏法を改良した新定量法は特異性と再現性の点で満足できる定量法であることを示した。又改良法により正常人一日 VMA 平均排泄量の測定、昼間夜間排泄量の比較をなした。分娩前後の分時尿についての VMA 及び関連物質の測定により E が生理的子宮筋収縮の機序に何等かの役割を演ずるのであるとの suggestion を得た。実験的に家兎に insulin, alloxan, 甲状腺製剤, acetylcholine を投与すると VMA 排泄量は増加したが、これは E か NE の増加を裏書きするものであることが示された。

### 論文の審査結果の要旨

生体内 Catecholamine (CA) の level を探知するために直接血中の CA を測定することが考えられるが、これは定量上の困難其他の理由で不可能に近く理想的でない。著者はそれに代って間接的に尿中に VMA を定量することが実際的であると主張し Sandler 氏法に改良を加え、再現性と特異性の点で優れた定量法を考案した。次いで正常成人における VMA 1日排泄量の決定と昼間夜間の排泄量の比較を試み、分娩前後の分時尿における VMA 測定から分娩時に CA 特に Epinephrine が大量放出されたことを示す成績を示した。又動物実験に於いても各種条件下に VMA 排泄の増加を見たが、これは CA 及

び中間代謝産物の増加に比例している成績から、大量に排泄されしかも非常に安定した CA の終末代謝産物たる VMA を尿中に定量することが生体内 CA level を推考するため理想的であると主張した。自律神経系失調症、褐色細胞腫の診断等のために今後臨床面に於いても本定量法による VMA 測定は活用されるべきであり、広く CA の研究に貢献する所大であると確信するものである。