

Title	生体アミンの系統的分析法の開発とその応用
Author(s)	大和谷, 厚
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32112
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

[17]

氏名・(本籍)	大和谷 厚
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4238 号
学位授与の日付	昭和53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	生体アミンの系統的分析法の開発とその応用
論文審査委員	(主査) 教授 和田 博 (副査) 教授 薮内 百治 教授 吉田 博

論文内容の要旨

〔目的〕

カテコールアミン、セロトニン、ヒスタミンなどの生体アミンとよばれているアミン類は、生体の生理機能の発現・調節に重要な役割を果たしている。特に中枢神経系においては、これらの生体アミンが、神経刺激伝達物質として働いており、生理的あるいは病理的諸現象や中枢神経作用薬物の作用機作の研究には、微量の同一試料中から各種生体アミンを同時に分析する方法の開発が不可欠である。

そこで、数種のカラムクロマトグラフィーと蛍光分析法とを組み合わせ、同一生体試料中の γ-アミノ酪酸 (GABA)、アドレナリン (AD)、ノルアドレナリン (NA)、ドーパミン (DA)、セロトニン (5HT)、ヒスタミン (HA)、メチルヒスタミン (MHA) を系統的に分析する方法を開発し、マウス脳内のこれらのアミンの、薬物による変動を検討することを目的に本研究を行なった。

〔方法ならびに成績〕

1. 生体試料よりのアミンの抽出分離法

試料の過塩素酸による除蛋白抽出液を、アンバーライトCG-50 (0.4φ×9.5cm)、セファデックスG-10 (0.4φ×9.5cm)、ダウエックス50×8 (0.4φ×5.0cm) のカラムに順次通して「GABA分画」「カテコールアミン分画」「インドールアミン分画」「イミダゾールアミン分画」にまず分離する。この分画操作は、酸性条件下、EDTA、ジチオスライトールの存在下に行なうため各分画への各アミンの回収率は95~99%と非常に良好である。

2. アミンの定量法

(1) GABAは「GABA分画」を自動アミノ酸分析機にかけて定量した。なお、この分画には、ホモ

バニリン酸・バニルマンデル酸・5-ヒドロキシインドール酢酸・イミダゾール酢酸などのアミンの代謝物質である有機酸も回収されており、適当な分析法を選べば、これらの有機酸も同時に定量することができる。

(2) 「カテコールアミン分画」からは、関らの液体クロマトグラフィー—自動化トリヒドロキシインドール法でAD・NA・DAを分離定量した。

(3) 「インドールアミン分画」からは、Maickelらの酸性条件下でのオルトフタルアルデヒド法で5HTを定量した。

(4) 「イミダゾールアミン分画」からは、著者らの開発したダンシル化法でHA・MHA (N^{π} -MHA および N^{τ} -MHA) を分離定量した。

以上の定量操作を、できるだけ自動化することによって再現性よく、一検体あたりGABAは5n moles, DAは250p moles, AD・NA・5HT・HA・MHAは5~10p molesまで定量できた。従って、脳組織であれば数10mg, 血清であれば1~2mlの試料で分析することができる。

3. マウス脳内アミンの分析

(1) 6週令ddy系雄性マウスの全脳中には、GABA=2190±160, AD=0.05±0.03, NA=2.59±0.30, DA=6.10±0.60, 5HT=2.28±0.19, HA 0.56±0.09, N^{τ} -MHA=0.84±0.17n moles/gの各アミンが存在した。 N^{π} -MHAは検出できなかった。

(2) カテコールアミンの前駆アミノ酸であるジオキシフェニルアラニン (DOPA) を腹腔内に投与するとDAが著増し5HTがやや減少した。セロトニンの前駆アミノ酸である5-ヒドロキシトリプトファン (5HTP) を腹腔内に投与すると、5HTが著増しNA・DAが減少した。ヒスタミンの前駆アミノ酸であるヒスチジンを腹腔内投与しても、HA・MHAをはじめ各アミンとも大きな変動を認めなかったが、モノアミン酸化酵素阻害剤であるパーズリンを前投与しておいたのちにヒスチジンを投与するとHAは1.5倍に、MHAは2倍に増加した。

(3) ビタミンB₆ 酵素阻害剤であるセミカルバジドを腹腔内投与すると、特有な痙攣発現に一致してGABA・HA・MHAが減少し、NA・DAはやや遅れて軽度減少、5HTは無変化ないし軽度の増加を示した。さらに、パーズリンを前投与してヒスチジンを投与したマウスでは、セミカルバジドによる痙攣が出現しなかったことから、イミダゾール化合物が何らかの形で、この痙攣の発現に関与していると考えられる。

〔総括〕

1. 同一の生体試料から、GABA・AD・NA・DA・5HT・HA・MHAの7種の生体アミンを系統分析する方法を開発した。

2. 本法は、感度・回収率・再現性が非常に良好で、数10mgの脳組織からの生体アミン分析が可能である。

3. 各アミンの前駆アミノ酸の投与で、カテコールアミンとセロトニンは著明に変化し、しかも相互に影響をおよぼしているが、ヒスタミンには大きな変化が認められなかった。

4. ビタミンB₆ 酵素阻害剤を投与し痙攣を惹起させた時、今まで言われているGABAの減少に加え

てイミダゾールアミンの減少が観察され、イミダゾール化合物と痙攣との関係が示唆された。

論文の審査結果の要旨

著者は、微量の生体試料（脳組織10～500mg，血漿1～2ml）中に存在する生理的に重要なアミン類の系統分析法を開発し，その方法をマウス脳内アミンの変動の研究に応用した。

この方法は，カラムクロマトグラフィーを駆使して，1つの試料から7種の生体アミンを個別に分離定量するという点で，今までにない方法であり，今後の薬理学研究の有力な方法論として高く評価される。さらに，この方法を用いてビタミンB₆酵素阻害による痙攣に，今まで知られているGABA以外にもイミダゾール化合物が関与している可能性を示した。

よって本論文は，医学博士の学位に十分価値するものと認める。