



Title	L-DOPAとL-5HTPのラット臍における代謝およびその外分泌に及ぼす影響
Author(s)	森, 襄
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32990">https://hdl.handle.net/11094/32990</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)	<sup>もり</sup> 森 <sup>じよう</sup> 襄
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 0 9 1 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 10 月 3 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	L-DOPA と L-5HTP のラット膵における代謝およびその 外分泌に及ぼす影響
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 青 沼 繁 (副査) 教 授 近 藤 雅 臣 教 授 岩 田 平 太 郎 教 授 三 浦 喜 温

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 緒 論

膵外分泌腺は蛋白合成に必要なアミノ酸のみならず、L-dopa や L-5HTP を含む、蛋白合成に用いられない数種のアミノ酸を取り込むことが報告されている。著者は薬理実験との関連において、生体活性アミンの分布を光学顕微鏡下に観察できる蛍光組織化学的方法を用いたが、この時ラット膵腺房細胞が L-dopa および L-5HTP を取り込むが、この両者は違った分布像、代謝速度を示すことを観察した。膵外分泌腺がこれら化合物を取り込み代謝するのは、単にこの臓器のアミノ酸処理能が非特異的であるということを反映しているにすぎないのか、多量に取り込まれた L-dopa や L-5HTP より生成する強い生理活性を持つアミンが分泌機構に何らかの影響を及ぼさないのか、そしてこの現象が膵の外分泌機能の一面を知るための 1 つの手段とならないかに興味を持たれた。そこで、これら 2 種のアミン前駆物質のラット膵臓による取り込みと代謝、これら過程に対する各種薬物の作用について、蛍光組織化学的、化学的および薬理学的方法によって検討した。

### 本 論

#### 第一章 ラット膵外分泌部による L-dopa の取り込みと代謝

無処置ラットの膵臓を Falck-Hillarp 法に従い処理し蛍光顕微鏡下に観察する時、膵腺房細胞は何ら蛍光物質を含まない(Fig. 1)。

L-dopa (50mg/kg) を投与するとき、膵腺房細胞には L-dopa より生成した DA による強い黄緑色蛍光が出現した(Fig. 2)。L-dopa を投与短時間経過後は、DA 蛍光は腺房細胞の細胞質全体に汎在性に分布(汎在性蛍光)し、その後腺房細胞尖端の分泌顆粒蓄積部に顆粒状に分布(顆粒性蛍光)



Fig. 1. Pancreas of normal rat. Catecholamine fluorescence is observed only in the adrenergic nerves which follow arterioles of varying size. Langerhans' islands in normal rats do not show any specific fluorescence. x160

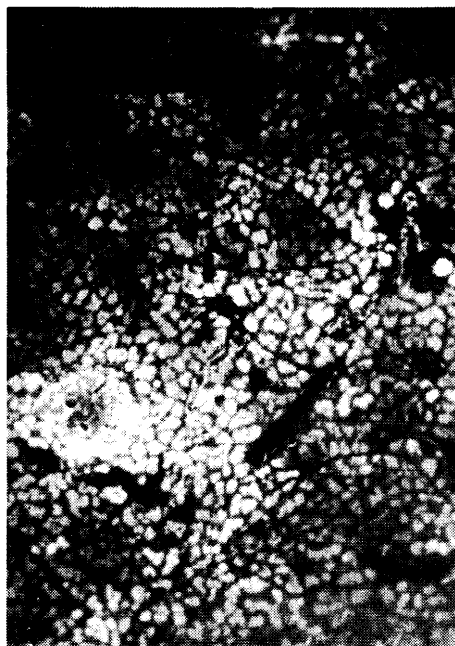


Fig. 2. Rat pancreas, 20 min after injection of L - dopa (50mg/kg). Specific granular and diffuse fluorescence is distributed unevenly among different acini. A small Langerhans' island with strong fluorescence is seen to the left. No specific fluorescence occurred in the connective tissue. x100



Fig. 3. Rat pancreas, 20 min after injection of L-dopa (50 mg/kg) to the rat pretreated with sulpiride (32 mg/kg, 10 min before L-dopa). Stronger granular fluorescence is evenly distributed throughout the acini.  $\times 100$

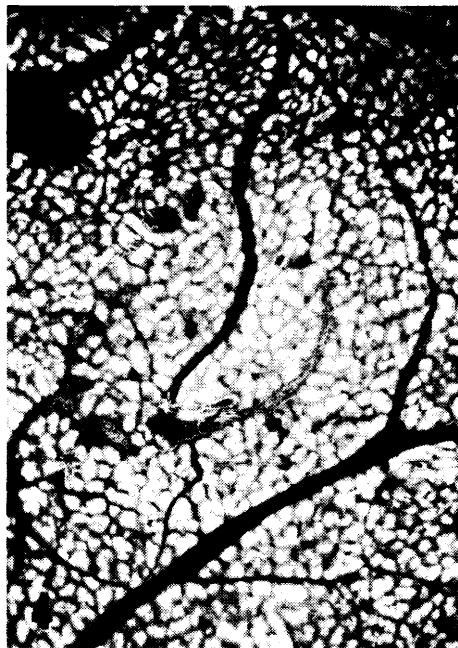


Fig. 4. Rat pancreas, 20 min after injection of L-dopa (50 mg/kg) to the rat pretreated with phentolamine (8 mg/kg, 10 min before L-dopa). Stronger granular fluorescence is evenly distributed throughout acini.  $\times 100$

したが、やがて代謝・排出されることにより消失した。Fig. 1 に示す如く DA の分布は小葉間で不均一であった。

種々の前処置が L-dopa 投与後の組織化学像に影響を及ぼした。即ち、膵の分泌機能を抑制すると考えられる長期の絶食処置後では、広い範囲の腺房に、より強い顆粒性蛍光が蓄積した。膵の酵素分泌を亢進する pilocarpine は顆粒性蛍光の蓄積を軽度減少させたが、水・塩の分泌を亢進する secretin は作用を示さなかった。アミン取り込み阻害剤の前処置では蛍光の蓄積は減少し、一方モノアミン酸化酵素(MAO)阻害剤の前処置では強度の、そしてカテコール-O-メチル転換酵素(COMT)阻害剤では極軽度の蛍光の蓄積の増加が見られた。

DA 受容体阻害剤の前処置は L-dopa 投与後の顆粒性蛍光の蓄積を強く増強すると共に、その小葉間における分布を極めて一様化した(Fig. 3)。交感神経  $\alpha$  受容体阻害剤もほぼ同様の変化を惹起した (Fig. 4)。しかし、 $\beta$  受容体阻害剤ではこの様な変化は見られなかった。

種々の処置の L-dopa 投与後の組織化学像に及ぼす影響を Table 1 にまとめた。

TABLE 1. Effects of drugs on the accumulation of DA in the exocrine pancreas of the rat after injection of L-dopa

Treatments	Dose mg/kg or U/kg	Time after L-dopa injection				Distri- bution
		20 min		60 min		
		GF	DF	GF	DF	
L-dopa alone	50	—	—	—	—	U
Fasting	—	↑	→	↑	→	E
Pilocarpine	64	→	→	↓	→	U
Secretin	4	→	→	→	→	U
Reserpine	4	↓	↓	↓	↓	U
Desipramine	16	↓	↓	↓	↓	U
Iproniazide	150	↑	↑	↑	↑	U
Pyrogallol	32	↑	↑	→	→	U
Haloperidol	2	↑	→	↑	→	E
Sulpiride	32	↑	→	↑	→	E
Pimozide	8	↑	→	↑	→	E
Phentolamine	8	↑	→	↑	→	E
Phenoxybenzamine	8	↑	→	↑	↑	E
Iproniazide	150	↑	↑	↑	→	E
+Sulpiride	32	↑	↑	↑	→	E
Sulpiride	32	↑	↑	→	→	E
+Phentolamine	8	↑	↑	→	→	E
Propranolol	4	↑	↑	→	→	U
Oxprenolol	0.5	→	→	→	→	U

GF; granular fluorescence. DF; diffuse fluorescence. →; the extent of distribution of DA is comparable to that of control. ↑; wider distribution or higher density of DA is observed. ↓; smaller distribution or lower density of DA was observed. Distribution pattern; DA fluorescence was evenly (E) distributed throughout a wide range of acini or unevenly (U).

化学定量実験においても DA および  $\alpha$  受容体阻害剤の前処置が L-dopa 投与後の膵内 DA 含量を有意に上昇させるのが認められた (Table 2)。しかし、NA 含量にはこの様な変化は認められなかった。

TABLE 2. Effects of drugs on the pancreatic DA contents ( $\mu\text{g/g}$ ) after injection of L-dopa

Treatments	Dose mg/kg	Time after L-dopa injection	
		20 min	60 min
Saline	—	0.02 $\pm$ 0.01 (4)	
L-dopa alone	50	10.50 $\pm$ 0.97 (10)	2.26 $\pm$ 0.54 (10)
Sulpiride	32	19.65 $\pm$ 2.80 (8)*	4.91 $\pm$ 0.60 (6)*
Haloperidol	2	16.80 $\pm$ 1.64 (10)**	3.69 $\pm$ 0.47 (6)*
Pimozide	8	15.18 $\pm$ 1.52 (5)*	4.74 $\pm$ 0.84 (5)**
Phenoxybenzamine	8	22.29 $\pm$ 2.11 (5)**	4.43 $\pm$ 0.36 (5)*
Phentolamine	8	22.64 $\pm$ 1.83 (10)**	8.30 $\pm$ 1.23 (5)*
Propranolol	4	16.19 $\pm$ 3.10 (4)	3.18 $\pm$ 0.49 (6)
Oxprenolol	0.5	8.38 $\pm$ 1.97 (6)	3.19 $\pm$ 0.43 (6)

Values are mean  $\pm$  S.E. Number of animals in parentheses. \*:  $p < 0.05$  and \*\*:  $p < 0.01$

L-dopa (50 mg/kg, i. v.) を投与後膵液内に排出される L-dopa の代謝産物を定量したところ、多量の DA と DOPAC、そして少量の HVA が検出された。MTA は検出されなかった (Table 3)。

TABLE 3. Metabolites of L-dopa excreted into the pancreatic juice after injection of L-dopa

Treat- ment	Dose mg/kg	DA	DOPAC	HVA
Saline	—	0.37 $\pm$ 0.22 (5)	0.26 $\pm$ 0.14 (5)	0.20 $\pm$ 0.07 (5)
L-dopa	50	5.32 $\pm$ 0.46 (5)	6.96 $\pm$ 0.17 (5)	0.58 $\pm$ 0.06 (7)

Values are mean  $\pm$  S.E. ( $\mu\text{g/ml}$ ). Number of animals in parentheses. The juice was collected for 90 min after injection of L-dopa.

以上の結果は L-dopa の膵腺房細胞による代謝がカテコールアミン代謝酵素および膵の分泌機能の両者の影響を受けることを示している。L-dopa より生成した膵内 DA は各小葉間に不均一に分布したが、これは各小葉が非同時的に作働することを意味すると考えられる。DA および  $\alpha$  受容体阻害剤は L-dopa 投与後の膵内 DA 含量を著しく増大させると共に、その各小葉間における分布を極めて一様化した。これら阻害剤は L-dopa の取り込み、酵素による分解、細胞内移送および膵液内への排出の各段階のいずれかに作用して、上記の変化を惹起したと考えられる。DA および  $\alpha$  受容体阻害剤はカテコールアミン代謝酵素阻害剤と違った影響を L-dopa 投与後の組織化学像に及ぼしたことから、またこれら阻害剤は膵分泌機能の抑制を示唆すると考えられる DA の蓄積の増大を来したところから、酵素系でなく、主に分泌機能に影響することにより、上記変化を来したと考えられる。しかし、これらの両阻害剤が同じ機作に従い同様の変化を来したのか否かは明らかでない。

## 第二章 ラット膵外分泌部による L-5HTP の取り込みと代謝

本章では L-5HTP のラット膵外分泌部における代謝を検討し、L-dopa のそれと比較した。L-5HTP を投与する時 5-HT による黄色特異蛍光が腺房細胞の細胞質に出現したが、それは汎在性に分布した。L-dopa 投与後ではいずれの時間帯においても腺房細胞尖端部の分泌顆粒蓄積部に見

られる 粒性蛍光が広い範囲に見られたのに対し、L-5 HTP 投与後では常に汎在性蛍光が主であり、粒性蛍光は極く一部の小葉ないし腺房に限られていた(Fig. 5)。



Fig. 5. Rat pancreas, 60 min after injection of L-5HTP (60 mg/kg). Yellowish 5-HT fluorescence is diffusely distributed in the cytoplasm of acinar cells. A large (to the upper left) and small (to the lower right) Langerhans' islands also contain specific fluorescence. No specific fluorescence occurred in the connective tissue. x100

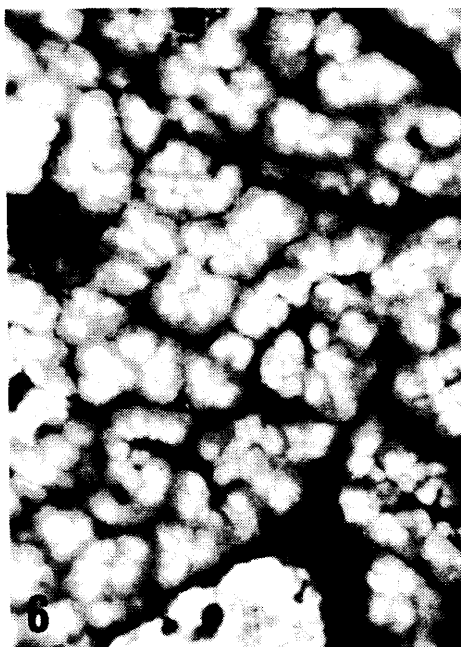


Fig. 6. Rat pancreas, 60 min after injection of L-5HTP (60 mg/kg) to the rat pretreated with iproniazide (150 mg/kg, 3 hr before L-5HTP). Strong granular fluorescence is seen in the apical parts of the acinar cells, and strong diffuse fluorescence in the cytoplasm. A Langerhans' island is seen in the lower part. x400



Fig. 7. Rat pancreas, 60 min after injection of L-5HTP (60 mg/kg) to the rat pretreated with cyproheptadine (4 mg/kg, 10 min before L-5HTP). There are no apparent changes. x100

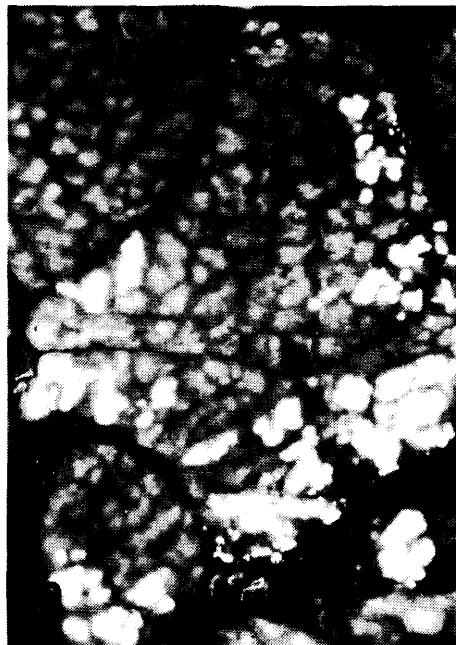


Fig. 8. Rat pancreas, 60 min after injection of L-5HTP (60 mg/kg) into the rat pretreated with phenoxybenzamine (8 mg/kg, 10 min before L-5HTP). Strong granular fluorescence is seen in some acini, and weak granular fluorescence in the remaining acini. Diffuse fluorescence in the cytoplasm is also stronger than control. x200



MAO 阻害剤 iproniazide を前処理した動物に L-5HTP を投与する時、標本全体に非常に強い顆粒性および汎在性蛍光が出現した (Fig. 6)。DA および 5-HT 受容体阻害剤は作用を示さなかった (Fig. 7)。一方、 $\alpha$  受容体阻害剤は一部の腺房に強い、そして広い範囲の腺房に弱い顆粒性蛍光を出現させた (Fig. 8)。

L-5HTP 投与後の膵内 5-HT 含量の推移に及ぼす受容体阻害剤の影響を化学定量法で検討し、L-dopa の場合と比較した所 2~3 点で違いが見られた (Table 4)。即ち、(1)膵内 5-HT は DA の場合よりも徐々に代謝・排泄された、(2)5-HT 受容体阻害剤の前処置は膵内 5-HT の代謝・排泄を促進したが、これは DA 受容体阻害剤の膵内 DA 含量に及ぼす効果とは逆であった、(3)MAO 阻害剤の効果は、DA の場合におけるよりも、より著明であること等であった。

TABLE 4. Effects of drugs on the pancreatic 5-HT contents after i.v. administration of L-5HTP

Treatment	Dose mg/kg	Contents of 5-HT ( $\mu$ g/g wet weight) Time after injection of L-5HTP (min)			
		5	10	20	60
Saline	—	0.07 $\pm$ 0.03 (5)			
L-5HTP alone	60	Not assayed	Not assayed	48.7 $\pm$ 4.5 (5)	31.8 $\pm$ 2.2 (5)
Methysergide	1	Not assayed	Not assayed	44.6 $\pm$ 4.5 (5)	19.9 $\pm$ 0.8 (5)*
Haloperidol	2	Not assayed	Not assayed	21.4 $\pm$ 3.5 (5)*	20.1 $\pm$ 3.5 (5)*
Iproniazide	150	Not assayed	Not assayed	120.8 $\pm$ 10.9 (5)**	273.2 $\pm$ 40.1 (5)**
L-5HTP	60	37.0 $\pm$ 0.6 (6)	28.7 $\pm$ 1.5 (6)	29.4 $\pm$ 2.5 (6)	14.9 $\pm$ 0.6 (6)
Cyproheptadine	4	29.4 $\pm$ 2.7 (6)*	21.6 $\pm$ 1.6 (6)*	22.3 $\pm$ 2.7 (6)	12.8 $\pm$ 0.2 (6)*
Sulpiride	32	34.6 $\pm$ 2.9 (6)	34.8 $\pm$ 4.5 (6)	27.8 $\pm$ 3.9 (6)	15.2 $\pm$ 0.8 (6)

Drugs, except iproniazide, were given i.v. 10 min before L-5HTP. Iproniazide was given s.c. 3 hr before injection of L-5HTP. Values are mean $\pm$ S.E. Number of animals in parentheses. Significantly different from corresponding values; \*at  $p<0.05$ , \*\*at  $p<0.01$ .

DA 受容体阻害剤については、sulpiride では作用なく、haloperidol では初期観察時間における 5-HT 含量が有意に低いこと、そして時間経過に伴う減少度の小さいのが特徴であった。

L-5HTP 投与後膵液内で排出される代謝物の点でも L-dopa の場合とは違いが見られた。即ち、全体として代謝物の排出量が少く、また 5-HT よりも、更に代謝された 5-HIAA の形での排出が主であった (Table 5)。

以上の様なラット膵における L-dopa と L-5HTP の代謝の違いには、両化合物に対する酵素系の関わり方の違い、両化合物の代謝産物の排出経路の違い等と共に、両化合物の膵外分泌機能に及ぼす作用の違いも関係していると考えられる。

### 第三章 生体活性アミンおよび関連物質の膵液分泌への作用

前 2 章に示したラット膵腺房細胞における L-dopa と L-5HTP の代謝の違いが、これら化合物のラット膵外分泌に及ぼす作用の違いに基づくものか否かを検討するために、L-dopa および L-5HTP と関連化合物の無麻酔ラットの膵外分泌に及ぼす作用について検当した。薬物は全て静脈内投与した。

TABLE 5. Concentrations of 5-HT and 5-HIAA in the pancreatic juice after i.v. administration of L-5HTP

Treatment	Dose mg/kg	N	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	
			5-HT	5-HIAA
Control	0	5	Not detectable	Not detectable
L-5HTP	60	9	$0.73 \pm 0.17$	$1.59 \pm 0.60$

The pancreatic juice was collected for 90 min after i.v. administration of L-5HTP or saline. N: Number of animals. Values are mean  $\pm$  S.E.

TABLE 6. Effects of DA, 5-HT and related compounds on the rate of flow of pancreatic juice in rats

Drugs	Dose mg/kg	N	Number of drops/15 min		
			Control	1st 15-min	2nd 15-min
DA	1	5	$8.3 \pm 1.2$	$7.6 \pm 1.1$	$8.0 \pm 1.8$
	2	5	$9.8 \pm 1.7$	$9.8 \pm 1.5$	$9.4 \pm 1.3$
Apomorphine	1	5	$9.6 \pm 1.9$	$8.6 \pm 1.9$	$9.2 \pm 2.1$
DA <sup>*</sup> (infused)	6	5	$8.7 \pm 1.0$	$9.4 \pm 1.2$	$10.0 \pm 1.4$
	15	5	$9.2 \pm 1.3$	$10.6 \pm 1.2^{**}$	$11.6 \pm 1.1^{**}$
	30	5	$8.6 \pm 1.0$	$10.4 \pm 0.9^{**}$	$10.8 \pm 1.0^{**}$
L-dopa	16	5	$10.2 \pm 0.5$	$9.8 \pm 0.4$	$10.6 \pm 0.5$
	32	7	$6.9 \pm 0.4$	$7.6 \pm 0.6$	$7.7 \pm 0.8$
5-HT	0.25	4	$11.4 \pm 0.7$	$11.3 \pm 0.6$	$11.0 \pm 1.4$
	0.5	9	$8.7 \pm 1.1$	$7.7 \pm 0.8^*$	$8.7 \pm 1.1$
L-5HTP	16	7	$9.3 \pm 1.0$	$8.6 \pm 0.9$	$8.0 \pm 0.9$
	32	12	$9.0 \pm 0.8$	$7.0 \pm 1.0^{**}$	$7.0 \pm 1.0^{**}$

N; number of animals. Values are mean  $\pm$  S.E. \*:  $p < 0.10$ , and \*\*:  $p < 0.05$ , as compared to control. For the duration of action of drugs, see text. <sup>\*</sup>; DA was infused at the rate of 6, 15, and 30 mg/2 ml/30 min/animal.

# 1. 膵液分泌量に対する効果

DA (1, 2mg/kg), DA 作働薬 apomorphine (1 mg/kg) および L-dopa (16, 32mg/kg) の単独投与は膵液分泌に影響しなかった。一方, DA のインフュージョン (15, 30mg/ラット/30分) は軽度ながら有意に膵液分泌を亢進した。5-HT (0.5mg/kg) および L-5HTP (32mg/kg) は有意に膵液分泌を抑制した。結果を Table 6 に示した。

犬膵に対して secretin 様の強力な分泌亢進作用を示すと報告されている DA はラット膵では極めて弱い作用を示したにすぎなかったところから, 一般的な膵液分泌亢進剤および他種アミンの作用についても検討した。結果を Table 7 に示した。secretin (2-32U/kg) は用量に従い膵液分泌を亢進した。acetylcholine (0.125mg/kg) は一過性の, そして carbamylcholine (0.125mg/kg) は持続

TABLE 7. Effects of various amines on the rate of flow of pancreatic juice in rats

Drugs	Dose mg/kg	N	Number of drops/15 min		
			Control	1st 15-min	2nd 15-min
Secretin	2	5	6.2±0.6	7.0±0.9	6.0±0.8
	4	6	7.2±0.8	9.3±1.1**	7.7±1.1
	8	6	6.4±0.9	9.2±1.3***	6.7±0.8
	16	6	5.7±0.6	8.8±1.2**	7.3±0.8**
	32	5	6.7±0.8	12.8±0.9***	8.8±0.9***
Acetylcholine	0.125	5	9.7±0.9	11.2±1.1*	9.8±1.0
Carbamylcholine	0.125	5	10.3±1.0	12.6±2.3**	16.2±2.7**
Phenylephrine	1	6	9.2±1.3	6.3±0.6*	8.8±1.0
Clonidine	0.5	5	11.8±0.6	8.2±1.0**	8.4±0.7**
Histamine	1	5	9.7±1.3	9.4±1.5	9.8±1.7
	2	5	10.1±1.5	11.0±1.4	10.4±1.2
Isoproterenol	0.064	5	8.0±0.9	9.0±1.0	8.0±0.9
	0.250	5	6.9±0.7	9.8±0.9**	7.0±0.9
	1.0	5	6.3±0.7	9.8±1.1***	7.2±0.7***

The dose of secretin is in terms of U/kg. N; number of animals. Values are mean ± S.E. \*: p<0.1, \*\*: p<0.05, and \*\*\*: p<0.01, as compared to control. For the duration of action of drugs, see text.

性の分泌亢進作用を示した。一方, phenylephrine (1 mg/kg) は一過性の, そして clonidine (1 mg/kg) は持続性の分泌性の分泌抑制作用を示した。histamine (1.2 mg/kg) は作用を示さなかったが, isoproterenol (0.064—1.0 mg/kg) は用量に従い分泌亢進作用を示した。phenylephrine, isoproterenol および carbamylcholine の膵液分泌亢進ないし抑制作用は, 対応するそれぞれの拮抗剤である phenoxybenzamine, propranolol および atropine のそれら自身では膵液分泌に影響を及ぼさない用量で拮抗された。

## 2. 蛋白分泌に対する効果

L-dopa (32 mg/kg) は軽度ながら有意な蛋白濃度の上昇を来とし, 反対に L-5HTP (32 mg/kg) は有意な下降を来した。対照薬として用いた Carbamylcholine (0.125 mg/kg) では明らかな蛋白濃度の上昇が見られた。しかし, secretin (32 U/kg), phenylephrine (1 mg/kg), および clonidine (0.5 mg/kg) は作用を示さなかった。結果を Table 8 に示した。

TABLE 8. Effects of amines on the pancreatic protein concentration in rats

Drugs	Dose mg/kg	N	Concentration (mg/ml)	
			Before adm.	After adm.
Secretin	32	7	31.0±4.3	29.1±3.8
Carbamylcholine	0.064	5	24.5±2.0	31.7±2.9*
L-dopa	32	8	20.2±4.0	23.6±4.4*
L-5HTP	32	7	21.8±3.5	15.1±4.1***
Phenylephrine	1	5	21.6±6.4	24.8±3.9
Clonidine	0.5	4	31.2±3.5	31.1±5.0

The dose of secretin is in terms of U/kg. N; number of animals. Values are mean ± S.E. \*: p<0.1, \*\*: p<0.05, and \*\*\*: p<0.01, as compared to control.

L-dopa および L-5HTP の蛋白濃度上昇および下降作用は、対応するそれぞれの拮抗剤である sulpiride および cyproheptadine のそれら自身では蛋白分泌に影響を及ぼさない用量で拮抗された。種々の拮抗剤の蛋白濃度に対する作用の内、phenoxybenzamine と phentolamine の明らかな蛋白濃度減少作用が、前 2 章の結果との関連で興味を持たれる。

### 3. 重炭酸塩濃度に対する効果

secretin (32U/kg) は著明に重炭酸塩濃度を上昇させたが、DA (2 mg/kg × 2), L-dopa (32mg/kg) および L-5HTP (32mg/kg) は作用を示さなかった。

以上の結果よりラット膵には外分泌に対して促進的に作用する DA 受容体、抑制的に作用する 5-HT 受容体が存在することが示唆される。この結果は前 2 章の組織化学的・化学的実験結果とよく対応している。また、 $\alpha$  受容体阻害剤が L-dopa 投与後の組織化学像に DA 受容体阻害剤と同様の変化を来たしたが、本章の結果より、前者が分泌顆粒の分泌抑制を介して、また後者が DA の分泌亢進作用の抑制を介して作用するという様に違う作用機作に基づくことが示唆された。

種々の生体活性アミンの膵外分泌に対する作用は従来主に犬の膵臓で検討されているが、本章の結果より DA, 5-HT, histamine 等のアミンに対する反応性において、ラットと犬の膵臓間には種属差の存在することが明らかである。

## 第四章 アミン取り込み抑制作用の組織化学的検討法

各種薬物の重要な作用点の 1 つと考えられている。神経終末によるアミンの取り込みへの作用を見る組織化学的方法について検討した。

### 1. in vivo の方法

血液-脳関門を欠き、かつ比較的高密度に NA の分布する最終後野および DA の分布する正中隆起を用いる方法について検討した。レセルピン処置動物に、MAO 阻害剤を投与後、アミンを静脈内投与する時、正中隆起における DA 分布の再構築像は比較的良好な再現性を示したが、最終後野の NA 分布の再構築像には再現性が欠しかった。従って、NA 含有神経終末標本としては、中枢の標本を断念し、虹彩を用いた。

レセルピンおよび MAO 阻害剤処置動物に、被検薬物を投与後、アミンを投与し正中隆起および虹彩におけるアミンの分布像を肉眼的に観察した。imipramine は NA 含有神経の取り込みを、DA 含有神経の取り込みよりも、より強く抑制した。methamphetamine, trihexylphenidyl, promethazine および amantadine 等の薬物は NA および DA の取り込みを共に強く抑制したが、methamphetamine の作用は NA に対しての方がより強く、残り 3 薬物の作用はどちらかといえば DA に対しての方がより強かった。これらの結果は化学的方法で得られた結果と対応している。しかしながら、この in vivo の方法は手技の繁雑さからして日常的使用には適さないと考えられる。

### 2. in vitro の方法

脊髓末端部馬尾叢内にある終末糸には中枢神経系内で最も豊富な 5-HT および NA 含有神経終末が分布すると報告されている。一方、DA 含有神経終末は尾状核内に最も豊富に含まれている。終末

糸が非常に細い標本であるところからそのままの形で、また尾状核標本はビブラトーム<sup>®</sup>で生の薄い切片にすると、*in vitro*での実験を行い、乾燥後、そのままですぐに組織化学的処理を実施できる。この3種の標本を用いて、アミンの取り込みに対する薬物の作用を検討した。

レセルピン処置ラットより上記3標本を作成し、対応するアミンの各種濃度を含む Krebs—Ringer bicarbonate 液中で時間を変えてインキュベイトしたところ、各々のアミンを $10^{-6}$ Mの濃度で用い、1時間に亘ってインキュベイトするとき、肉眼的比較に十分な組織化学像を得ることが出来た。しかし、終末糸の5-HT取り込み像は安定性・再現性を欠いた。6-HT (6-hydroxytryptamine) が5-HT含有神経に能動的に取り込まれると、5-HTの取り込みと同じ薬物に対する感受性を示すこと、そしてその組織化学反応産物が5-HTのものより安定しているところから、薬物の作用の検討しては6-HTを用いた。

各種薬物の作用を Table 9 にまとめた。結果の表示においては対照群と同程度の取り込み像を示した標本を (+)、部分抑制を示した標本 (±)、そして完全抑制を示した標本を (—) とスコア付けし各濃度に対して用いた標本の内それぞれの取り込み程度を示した標本の数を百分率で示すことによって行った。Table の結果から明らかな様に、前3章の実験に用いた受容体阻害剤の内haloperidol およびcyproheptadine は各種神経によるアミンの取り込みに対して、無視出来ない抑制作用を示した。従って、これら薬物は腺房細胞によるアミンおよびアミン前駆物質の取り込みを抑制することにより、腺房細胞によるL-dopa やL-5HTPの代謝に影響することが考えられる。

本法による種々の薬物の効果を見ると、代表的なアミン取り込み抑制剤の効果は従来の報告とよく一致している。従って本法は半定量的方法ながら、薬物のアミン取り込みに対する作用を知る上において有用と考えられる。アイソトープを用いる必要のないこと、又基本的な蛍光組織化学用装置があれば比較的手軽に実施できるのが本法の利点である。

## 結 論

- 1) ラット腺房細胞は蛋白合成に必要なアミノ酸のみならずL-dopa, L-5HTPの様なアミノ酸をも効率的に取り込み排泄する。これはこの臓器の蛋白合成能の旺盛さの1つの表われと考えられると共に、過剰のアミノ酸排泄機構の一環とも考えられる。しかし、いずれのアミノ酸も一律に代謝されるのではなく、アミノ酸によって違いが見られる。組織化学的および化学的方法で、ラット腺によるL-dopa とL-5HTPの代謝、およびこの代謝に対する各種受容体阻害剤および酵素阻害剤の作用について検討したところ、L-dopa とL-5HTPの間には種々の違いが見られた。これら相違の原因の一つとしてL-dopa とL-5HTP および対応するアミンの腺外分泌に及ぼす作用の違いが考えられる。
- 2) ラット腺外分泌は種々の生体活性アミンに対して犬腺外分泌と違った反応性を示す。大きな違いの1つは、犬において強いセクレチン様の作用を示すDAがラットでは極めて弱い作用を有するにすぎないことである。犬において効率的な刺激剤であるhistamineもラットでは作用を示さない。また犬において作用を示さないisoproterenol および5-HTはラットではそれぞれ分泌亢進および抑制作用を示す。他種アミンに対しては両種動物は同様の反応性を示す。

3) 神経終末でのアミン取り込みに対する薬物の抑制作用を検討するための *in vivo* および *in vitro* の組織化学的方法を検討した。NA および 5-HT 含有神経終末標本としてラットの終末糸を、また DA 含有神経終末標本としてラット尾状核のピブラートム®切片を用いる *in vitro* の方法は、半定量的方法ながら、各種薬物のこれら 3 種神経におけるアミン取り込み抑制作用を知る上において有用な方法と考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

組織化学的および化学的方法で、ラット脳による L-dopa と L-5HTP の代謝、およびこの代謝に対する各種受容体阻害剤および酵素阻害剤の作用について検討し、L-dopa と L-5HTP の間には種々の違いが見られ、これら相違の原因の 1 つとして L-dopa と L-5HTP および対応するアミンの脳外分泌に及ぼす作用の違いが考えられた。さらにラット脳外分泌は種々の生体活性アミンに対して犬脳外分泌と違った反応性を示し、犬において強いセクレチン様の作用を示す DA がラットでは極めて弱い作用を有するにすぎないことを認め、犬において効率的な刺激剤である histamine もラットでは作用を示さず、また犬において作用を示さない isoproterenol および 5-HT はラットではそれぞれ分泌亢進および抑制作用を示すことを認めた。さらに神経末でのアミン取り込みに対する薬物の抑制作用を検討し、*in vivo* および *in vitro* の組織化学的方法を検討した。依って薬学博士としての価値ある論文と認める。