The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	furosemideのmitochondria呼吸・電子伝達系および組織adenine nucleotides含量への影響
Author(s)	福原, 吉典
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32997
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【38】

氏名・(本籍)	福原吉典（ふくはらよしふみ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5472 号
学位授与の日付	昭和56年12月1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	**furosemideのmitochondria呼吸・電子伝達系および組織adenine nucleotides含量への影響**
論文審査委員	(主査) 教授 阿部 裕 (副査) 教授 山野 俊雄 教授 田川 邦夫

論文内容の要旨

〔目　的〕

利尿薬の特性は生理学的には解明されたが，生化学的にはなお充分とはいえない。著者は利尿薬分子が電子受容能を有するとの報告より，生体系における対象として電子伝達系を持つmitochondriaを選び，その呼吸・電子伝達系への強力活性利尿薬furosemideの影響を検討した。次いでin vitroで証明された電子伝達阻害作用が，in vivoでATP産生に影響を及ぼすか否かを組織adenine nucleotides含量を測定し検討せんとした。

〔方　法〕

SD系雄性ratの腎皮質，腎髄質，肝より萩原の方法でmitochondriaを調製し，酸素消費速度測定，分光学的解析に供した。牛心筋mitochondriaはAzzoneらの方法で調製，音波処理によりsubmitochondrial particleとし，電子伝達系酵素活性測定に供した。

mitochondria酸素消費速度に及ぼすfurosemideの影響は三宅式電極槽，galvanic electrodeを用い25℃の温度条件で測定した。mitochondria電子伝達系酵素活性は音波処理submitochondrial particleを用い，2,6-dichloroindophenol (DCIP)，cytochrome c (cyt. c)をelectron acceptorとし，Cary 17 autorecording spectrophotometerで測定した。mitochondria呼吸鎖成分のredox stateは日立二波長自記分光光度計556型を用い，cyt. b，cyt. c＋c_1を各々ΔA 562—575 nm，ΔA 550—540 nmで測定した。腎・肝adenine nucleotides含量は，furosemideを経静脈性に注入したSD系雄性ratで経時的に測定した。腎・肝は摘除後直ちにfreeze-clamp，一晩の凍結乾燥後過塩素酸で抽出，除蛋白し，KOHで中和測定に供した。ATP，ADP，AMP測定はIEX540陰イオン交換カラムを用い

た高速液体chromatographyによった。

〔成　績〕

(1) 腎皮質，腎髄質，肝mitochondriaのstate 3呼吸は，glutamate-malate, succinateいずれを基質とした際もfurosemide 10^{-4} M～4×10^{-3} M添加によりdose-relatedに抑制された。state 3呼吸50%抑制に要するfurosemide濃度はいずれの場合も1～2 mMであった。肝mitochondriaでSF 6847（10^{-7} M）により解放されたstate 4呼吸もfurosemide（5×10^{-6} M以上）添加によりdose-relatedに抑制された。

(2) 牛心筋音波処理submitochondrial particleのNADH-DCIP reductase, NADH-cyt. c reductase, succinate dehydrogenase, succinate-cyt. c reductase活性はfurosemide 4 mM添加により各々3.8%（n. s.），78.2%（$p<0.001$），12.4%（n. s.），79.2%（$p<0.001$）阻害された。

(3) rotenone（3γ）＋succinate添加によるstate 4のrat肝mitochondriaにfurosemide 2 mMを添加すると，cyt. bの還元率は46%より67%へ増加，逆にcyt. c＋c_1の還元率は29%より24%へと減少した。

以上より，furosemideはmitochondria電子伝達阻害作用を有し，その阻害部位は電子伝達系酵素活性阻害，呼吸鎖成分のcross over pointよりcyt. b～cyt. c間であることが証明された。

(4) furosemide 0.1mg/kg B. W./hr投与時には腎adenine nucleotides含量にはほとんど変化がみられないが，10，20mg/kg B. W./hr投与時には経時的なATP含量の減少（control 7.64±0.16，各々60分目の値，5.27±0.36：$p<0.05$，5.42±0.19μ moles/g dry weight：$p<0.05$），AMP含量の増加，total adenine nucleotides含量（＝ATP＋ADP＋AMP）の減少（control 10.83±0.25，各々60分目の値9.47±0.14：$p<0.05$，9.80±0.14μmoles/g dry weight：$p<0.05$）を認めた。3mg/kg B. W./hrでも有意ではないものの同様の傾向を認めた。

肝adenine nucleotides含量は，furosemide 3，20mg/kg B. W./hr投与中の全経過を通じcontrol値（ATP13.09±0.42，ADP 3.96±0.23，AMP 1.15±0.11，total 18.21±0.42μmoles/g dry weight）との間に差を認めなかった。

以上の成績はin vitroで示されたfurosemideの電子伝達阻害作用が，in vivoでも発現され，ATP産生抑制に働いていることを示唆する。腎でadenine nucleotides含量に変化がみられ，肝では認められなかったことは，furosemide作用の臓器特異性の一端を示すものと考えられる。

〔総　括〕

(1) furosemideは単離mitochondria（rat腎皮質，腎髄質，肝）において，10^{-4} M以上の濃度でstate 3呼吸を抑制する。その機序としてmitochondria電子伝達系をcyt. b～cyt. c間で阻害するantimycin A様電子伝達阻害作用をfurosemideが有することを明らかにした。

(2) in vivoにおけるfurosemide投与（10，20mg/kg B. W./hr）により，腎ATP, total adenine nucleotides含量減少，AMP含量の増加が認められたが，肝ではこれらの変動を認めなかった。この成績はin vitroで証明されたfurosemideの作用がin vivoでも発現されていることを窺わせ，かつfurosemide作用の臓器特異性の一端を示すものである。

論文の審査結果の要旨

利尿薬の生化学的特性に関する研究は現在に至るまで極めて少ない。薬物の生化学的特性を明らかにすることは，生体内での薬物の諸作用の解明につながり非常に有用と考えられる。本研究では利尿薬furosemideが単離mitochondriaに対しstate 3呼吸抑制，cyt. b～c_1間での電子伝達阻害作用を有する点，ratにfurosemideを投与した際，腎ではATP，total adenine nucleotides含量減少，energy charge低下をおこすが，肝のそれは不変であることを明らかにした点で価値ある研究と評価できる。