

Title	硼酸ゲルによる生体々液中のカテコラミンの抽出
Author(s)	比嘉, 定吉
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33148
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

氏名・(本籍)	比 嘉 定 吉
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 4 0 6 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 8 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	硼酸ゲルによる生体々液中のカテコラミンの抽出
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 熊原 雄一 教授 和田 博

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

生体アミンの中でカテコラミンは神経伝達物質や神経性ホルモンとして重要な役割をもち、それらの尿中あるいは血中濃度は既に交感神経機能の適確な指標として利用されている。またセロトニン（以下 5 HT）も諸疾患の病態解析の手段として期待されて来ている。しかしその分析に用いられてきたアルミナや陽イオン交換樹脂は除蛋白や脱塩を必要とし操作が複雑で熟練と時間を要するなど臨床応用上欠点を有している。私はこの抽出法の問題の克服に硼酸ゲルを導入した。このゲルはエステル結合により cis-diol を有する物質を、また陽イオン交換機能によりアミン類を吸着する独特の機能を有している。これを利用した新しい抽出法と機器分析の組み合わせの条件を検討し、生体アミンとその代謝物質の臨床応用に適した系統的分析を確立することを試みた。

〔方法並びに成績〕

尿中カテコラミン及びセロトニンの測定法；尿 5 ml にリン酸緩衝液 1 ml を加え、pH 7.4 に調整し硼酸ゲルカラム（5×0.5cm）にのせた。水洗後 5 HT を LiCl- 0.05 NHCl-メタノール混合液 4 ml で、次いでカテコラミンを 0.05 NHCl 4 ml で溶出した。5 HT は o-フタルアデヒド法で、ドーパミン（以下 DA）はジヒドロキシインドール法で、ノルエピネフリン（以下 NE）とエピネフリン（以下 E）はトリヒドロキシインドール法で夫々蛍光測定した。

尿中遊離ノルメタネフリン（以下 NM）とメタネフリン（以下 M）の測定法；尿 0.5ml に内部標準物質として重水素ラベルされた NM と硼酸緩衝液 0.5ml を加え、上記硼酸ゲルカラムにのせた。脱イオン水、0.47M アンモニア-メタノール溶液 2 ml で洗滌した後、2.4M アンモニア-メタノール溶液 2

mlで溶出した。これを乾燥させた後に無水ペンタフルオルプロピオン酸で誘導体化してガスクロマト-質量分析法（以下GC/MS）で測定した。

3,4-ジヒドロキシマンデル酸（以下DOMA）及びL-DOPAの測定法；尿1ml中のDOMA及び外因性L-DOPAを同ゲルで抽出し、前者はGC/MSで後者は高速液クロ-ボルタンメトリーで夫々定量した。

〔成績〕

硼酸ゲルに関する基礎条件を検討の結果、次のような特徴が明らかになった。このゲルは試料の除蛋白、脱塩及び脱脂操作なしにそのpHが6.5~9.0の範囲でカテコール核又はアミノ基を有する化合物を吸着し得る。吸着されたすべての物質は酸性溶液で、カテコラミン以外のアミン類はイオン強度の高いあるいはアルカリ性の溶液で、又カテコール核をもつアミノ酸又は酸性物質は蒸留水又はソルビトール水溶液で溶出可能であり、多くの場合溶出液の量は2~4mlの少量で十分である。上記の測定法においては尿中の各物質の回収率は80~95%であった。

健康人における各物質の1日尿中排泄量（ μg ）は5HT 94.7 ± 19.3 、DA 262 ± 41 、NE 34.2 ± 10.9 、E 7.1 ± 3.9 、NM 19.6 ± 8.5 、M 34.2 ± 13.6 及びDOMA 46.1 ± 27.1 （平均値 \pm 標準偏差）であり、これらの平均値の約 $\frac{1}{4}$ 倍から4倍の範囲で検量線が得られた。全被検者の尿のこれらの測定値においてNEとNMとの間に密接な正比例関係（ $r=0.80$ ）があった。一方EとMも相関々係があったがEが高値になるとMは一定になる傾向があった。

起立性低血圧を示す患者においては共通してNEとNMの尿中排泄量が低下していた。中枢性起立性低血圧の症例を除いて薬剤性及び末梢性障害の場合は他のアミン類も全般に低下していた。これらの結果から起立性低血圧の病態において交感神経のNE合成又は放出の障害のあることが推測され、又各物質の尿中排泄量を比較検討することにより交感神経の障害部位や様式の解明など、広く臨床的にこれらの測定法が役立つものと期待される。

〔総括〕

硼酸ゲルはアミノ基やカテコール核をもつ化合物を吸着し、多様な抽出方法のできる独特の機能を有していることが明らかになった。このゲルを用いた抽出法と諸種の機器分析を組み合わせ、尿中5HT、DA、NE、E、NM、M、DOMA及びL-DOPAを系統的に測定する新しい方法を開発した。これらの方法を起立性低血圧症候群に応用し交感神経障害の病態解析に有用であることが示された。

論文の審査結果の要旨

本論文は硼酸ゲルがcis-diolを有する化合物やアミン類を吸着し得る機能を利用して生体試料中からのカテコラミンを抽出する新しい方法を述べたものである。従来の抽出法に比べて除蛋白や脱塩の必要がなく、操作が簡単迅速で回収率も良好であり、いろいろな分析機器と組み合わせたり、カテコラミンのみならずその代謝物質や他のアミン類の抽出にも利用できるなどの多くのすぐれた面を有

している。このゲルを利用して実際に起立性低血圧を有する患者の尿を分析した結果はその臨床応用の可能性を実証している。