



Title	ドーパミン硫酸抱合体の分別微量定量法の開発とその生体内動態について
Author(s)	山本, 隆宣
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35238
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

氏名・(本籍)	山	本	隆	宣
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7228	号	
学位授与の日付	昭和	61年	3月	25日
学位授与の要件	医学研究科	生理系専攻		
	学位規則第	5条第1項該当		
学位論文題目	ドーパミン硫酸抱合体の分別微量定量法の開発とその生体内動態について			
論文審査委員	(主査) 教 授	和田	博	
	(副査) 教 授	吉田	博	教 授 熊原 雄一

論 文 内 容 の 要 旨

(目的)

ドーパミンはヒト血中でその99.5%以上が硫酸抱合体として存在している。ドーパミン硫酸抱合体には2種の異性体があり、尿中ではドーパミン-3-O-硫酸抱合体(3-O)が、4-O-硫酸抱合体(4-O)の約5倍存在することが知られているが、血中での存在比や尿中へのクリアランスについては不明である。さらに、血中に大量に存在するこれら硫酸抱合体がドーパミンの不活化最終代謝産物なのか、あるいは脱抱合を受けドーパミンとして再利用される貯蔵形態なのか、また硫酸抱合体自体が何らかの薬理活性を持っているのかについては議論の多いところである。これらの点を明らかにするため、著者は、まず、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)-蛍光法による、両異性体の特異的分別測定法を開発した上で、両異性体のヒトを含めた各種動物における体液中濃度と尿中クリアランスを測定し、ついで硫酸抱合体が多量に存在したイヌを用いて、その組織分布、生合成ならびに分解の酵素学的検索、さらに生体内動態と薬理活性の有無を検討した。

(方法)

- 1 3-Oおよび4-Oの標準品は、JennerとRoseの方法に改良を加え化学的に合成した。
- 2 陰イオン交換樹脂(TSK DEAE2SW)を用いたHPLCで分離後、p-アミノ安息香酸法を応用した蛍光法で両異性体を特異的に分別微量定量する方法を開発し、各種動物の体液中、組織中の3-O、4-O濃度を測定した。
- 3 遊離型のドーパミン、アドレナリン、ノルアドレナリンはHPLC-蛍光法で、ホモバニリン酸(HVA)、ジヒドロオキシフェニル酢酸(DOPAC)はHPLC-電気化学的検出法でそれぞれ定量した。

4 3-Oおよび4-Oの合成酵素であるフェノールスルホトランスフェラーゼ(PST)活性および、分解酵素であるアリルスルファターゼ活性は、生成した硫酸抱合体または遊離したドーパミンを前述のHPLCで定量し測定した。

5 化学合成した3-O, 4-Oをイヌ静脈内に投与し、尿中血中の各物質の動態および血圧、脈拍ならびに尿量の変化を測定した。

(結 果)

1 ヒト血中には尿中と同様の存在比で3-O(26.5±11.1)と4-O(2.68±0.34 pmoles/ml)の両者が存在した。

2 ヒトでの尿中クリアランス値は3-Oが83.9±12.7, 4-Oは103.4±20.3 ml/minであり、これは血中の硫酸抱合体がそのまま尿中に排泄されることを示している。

3 イヌとサルの血中にも3-O(それぞれ7.2±2.6, 106.7±31.7 pmoles/ml)と4-O(それぞれ1.7以下, 11.7±45.8 pmoles/ml)の両者が存在していたが、ラット、マウス、ウサギでは検出できなかった。

4 イヌ末梢各組織内のドーパミン硫酸抱合体の大部分は3-Oであり、ドーパミン含量に対する比では腎臓が高値を示した(42±6%)。しかし中枢神経系では両異性体ともに検出できなかった。

5 イヌPST活性は肝臓、腎臓で高値を示した。肝臓を用いてDEAEセルロースカラムクロマトグラフィーにより分離した二種のPSTアイソザイムのうちPST-Aは3-Oを特異的に生成し、PST-Bは3-O:4-Oを32:1の割合で生成した。

6 イヌに静脈内投与した3-Oと4-Oの血中半減期は、それぞれ51.6±31.4および47.8±6.9分でほぼ同じであった。また投与中および投与後3時間に渡って血圧、脈拍、尿量には全く変化が認められなかった。

7 イヌに投与した3-Oは3時間以内に総投与量の63.5%が、4-Oは39.4%が尿中に排泄され、両異性体間の代謝過程に差が認められた。

8 投与した4-Oの0.32%は血中でドーパミンに脱抱合したが、3-Oでは脱抱合は4-Oの25%にしか過ぎなかった。これは、3-O, 4-Oを基質として、イヌ肝臓アリルスルファターゼ活性を測定したin vitroでの脱抱合の成績と一致した。

9 3-O, 4-O投与による血中ノルアドレナリン、アドレナリン濃度および尿中ドーパミン、DOPAC, HVAの排泄率には変化を認めなかった。

(総 括)

1 HPLC-蛍光法を用いて、3-O, 4-Oの高感度特異的分別定量法を開発した。この方法を用いて、従来報告のない血中3-O, 4-Oの生理的レベルを測定し、ヒト、イヌ、サルにはこれら硫酸抱合体が両者とも遊離型ドーパミンより大量に存在することを見い出した。

2 イヌを用いたin vivoおよびin vitroの検討から、内因性硫酸抱合体は主として肝臓と腎臓で生合成される3-Oであった。3-Oと4-Oには代謝排泄過程に差異が存在し、3-Oは生合成酵素であるPSTアイソザイム(PST-A, B)の両者により、4-OはPST-Bにより生合成され、また4-Oのみが

一部アリルスルファターゼで脱抱合を受け遊離型ドーパミンとなる可能性が示された。以上より3-Oは末梢組織におけるドーパミンの排泄型最終代謝産物であるが、少量存在する4-Oはさらにアセチル化、メチル化あるいは脱抱合などの代謝を受けることが示唆された。

3 最近報告されているこれら硫酸抱合体自体が何らかの薬理活性を有する可能性については否定的であった。

論文の審査結果の要旨

本研究は、ヒト血中抱合型ドーパミンのうち、その大部分を占める硫酸抱合体の2種の異性体を高感度特異的分別定量法の開発により、はじめて生理的レベルで血中および各組織の濃度を明らかにした。この方法の確立により、これら硫酸抱合体の生体内動態についての検索を可能にし、末梢組織ではドーパミンの最終代謝産物であるという事実を確定した。

カテコールアミン系の代謝機構の新しい方向づけをした点で貴重な研究であり、医学博士の学位に値すると評価出来る。