

Title	ビタミンB6の腸管吸収に関する研究
Author(s)	森田, 恵美子
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36732
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)	もり 森	た 田	え 恵	み 美	こ 子
学位の種類	薬	学	博	士	
学位記番号	第	8435	号		
学位授与の日付	平成元年	1月	26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	ビタミンB ₆ の腸管吸収に関する研究				
論文審査委員	(主査)	教授	三村	務	
	(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

B₆の腸管吸収については、1960年代から多くの研究者により、in vivo および in vitro の方法で研究されており、pyridoxine (PN) および pyridoxal (PL) は腸管から速やかに吸収されることが知られている。特にPNについての報告は多く、反転腸管および刷子縁膜小胞を用いた実験等からPNは受動的な機構により吸収されると考えられている。PLについての報告は少なく、辻の反転腸管による実験では、受動輸送であることが報告されている。一方 pyridoxal 5' - phosphate (PLP) は主に腸管腔でPLに加水分解された後PLの形で吸収されると考えられており、PLP自身の吸収についてはほとんど報告されていない。1974年、団野らは、ウサギの盲腸管を用いてPLPの吸収実験を行い、腸管膜静脈血中にごくわずかのPLPが検出されるが、多くはPLの形であると報告している。また1979年に Mehansho らは、腸管膜静脈血管の還流実験で生理的な量のPLPが腸管腔側から静脈還流液中に吸収されることを報告しているが、両者とも詳しい実験は行っていない。B₆はPLPの型としても食物中に多く含まれている。従って、加水分解されずにPLPとして吸収されるか否かは、生物学的に重要である。そこで、本研究では、吸収動態ならびに機構について不明な点が多いPLPについて in situ および in vitro で吸収実験を行い、PNおよびPLと比較検討した。

B₆の腸管吸収実験における血液中のB₆の定量を迅速にまた簡便に行うために、充填剤 Fine SIL C₁₈T、移動相 0.2% NaH₂PO₄-0.085% H₃PO₄ (10:11, pH2.4) を用い、蛍光 (Ex296nm, Em391nm) で検出するHPLC法を確立した。

PLPは肝臓で他のB₆各型に変換される。従って肝臓における初回通過効果の影響がない、腸管膜静脈から採血する in situ 吸収実験法を用いて、PLPの吸収をPNおよびPLの吸収と比較検討した。

B₅ ($10^{-3} \sim 10^{-2} M$) は腸管腔内での alkaline phosphatase (ALP) による加水分解を抑制するため、80mMリン酸緩衝液に溶解し、腸管腔内に投与した。

PNおよびPLは速やかに腸管腔より吸収され、その吸収速度は、 $PL > PN$ であった。PNは、一定の速度で吸収されたが、PLの吸収速度は、20分で最高に達し、以後急速に減少した。PLPの吸収速度はPNおよびPLに比べると小さく、投与後80分まで経時的に増加し、以後一定となった。noradrenalineの静脈内投与 ($0.5 \mu g/min$, 40分間) によりPLPの吸収は、促進されたが、PLおよびPNの吸収は促進されなかった。PLPがPLに加水分解された後吸収されるのであれば、PLを投与した場合と同じ吸収挙動を示すはずである。しかしながら $10^{-3} \sim 10^{-2} M$ 濃度におけるPLPの吸収はPLの吸収とは異なることより、吸収速度は小さいがPLPの形で吸収されることが明らかとなった。

生理的濃度 ($10^{-7} \sim 10^{-6} M$) のPLPとPLの腸管輸送を *in situ* で検討した。種々の濃度のPLPを *in situ* 腸管腔に投与した後のPLPの吸収量は、同濃度のPLを投与した時に認められるPLP量に比べると有意に大きい値を示したことからPLPの形で吸収されているものと考えられる。またこの吸収は飽和現象を示し、 $10^{-4} M$ 以下の濃度においては加水分解される前にPLPとして効率よく吸収されることが示唆された。一方種々の濃度のPLを投与した場合は、投与量の増加とともに吸収量も直線的に増加した。

次に、 $10^{-6} M$ 付近の低濃度におけるPLPおよびPLの輸送を *in vitro* 反転腸管法を用いて検討した。ALPによる加水分解を抑制するために120mMリン酸緩衝液を用いて incubation した場合、PLPは少なくとも粘膜側の細胞膜をPLPとして移行していることが示唆された。この条件下で粘膜側のPLP濃度を種々変化させてPLPの輸送 (粘膜側の初濃度に対する30分 incubation 後の漿膜側のB₅濃度との比を100倍した値を輸送率S/Mとして表す) を検討した結果、*in vitro* においてもPLPの輸送に飽和現象が認められた。 $1 \times 10^{-7} M$ のPLPの輸送は、嫌気的条件下、赤血球膜の陰イオン輸送系阻害剤 (DIDS) または pyridoxamine 5'-phosphate (PMP) の共存下では有意に阻害されなかったが actinomycin D で阻害されることから、タンパクが関与しているなど、特殊な輸送である可能性が考えられた。PLの輸送では飽和現象が認められなかったことより受動的な輸送であることが示唆された。

種々の動物の母乳中では、B₅ は主にPLPとPLの型で存在しているので、母乳を唯一の栄養源としている新生児においてはこれらの吸収は重要である。そこで、新生仔ラットにおけるPLPおよびPLの吸収を成熟ラットと比較検討した。 $1 \times 10^{-7} M$ のPLPの輸送以外は成熟ラットよりも新生仔ラットの方がPLPおよびPLのいずれも高い輸送率を示した。またPLPの輸送は、嫌気的条件、DIDS、PMPの共存で阻害されなかったが飽和現象を示した。一方、PLの輸送については、成熟ラットと同様に、受動的な機構で輸送されていることがわかった。

以上、PLP投与時に、微量のPLPが血液中に検出されるが、これはPLとして上皮細胞膜を移行したものが細胞内でPLPに再合成され、血液中に移行したのかあるいはPLPの形で吸収されたのかは不明であった。しかしながら、本研究により腸管には、PLPが加水分解されずにPLPとして吸収される機構が存在することが明らかとなった。またその吸収機構はPNやPLの吸収機構と異なりタン

パクが関与する特殊な吸収である可能性が考えられる。

論文の審査結果の要旨

ビタミンB₆群のうち pyridoxine や pyridoxal の腸管吸収については従来から詳しく研究され受動輸送であることが知られている。しかし活性型の pyridoxal phosphate についての腸管吸収については市販の腸溶錠があるにも拘らず明らかでなく、phosphate が水解されて後に始めて吸収されると考えられていた。このことについて薬剤学的な検討を加え、pyridoxal phosphate は量は少ないが生理的濃度で明らかに腸管から吸収されることを明らかにした。また pyridoxal や pyridoxine の吸収実験を対照として行い、脱リン酸から再リン酸化がおこるのではなく脱リン酸化された pyridoxal phosphate は吸収の間にもとへは戻らないことを証明した。さらにその機構についても知見を得、幼若な新生児の期間には吸収が良好なことをも明らかにするなど立派な内容で薬学博士にふさわしい論文であることを認めた。