

ラット肝 tryptophan oxygenase に及ぼす諸種 tranquilizer の影響

宮尾 陟・山崎修一*・石黒 茂

(家畜薬理学研究室)

昭和53年8月18日 受理

Effects of Some Tranquilizers on the Activity of Rat Liver Tryptophan Oxygenase

Noboru MIYAO, Shuichi YAMAZAKI and Shigeru ISHIGURO

(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

緒 論

chlorpromazine (CPZ) など phenothiazine 誘導体は、視床下部に対する抑制を介して作用し、ACTH の分泌も抑制するという事になっている^{15,36,37}。しかし ACTH 分泌に及ぼす CPZ の効果については、ACTH 分泌を低下せしめるという観察²³、あるいは上昇せしめるという観察²⁹があり一定していない。その後 Smith ら³³は CPZ その他の phenothiazine 系 tranquilizer の鎮静量が、副腎皮質 ascorbic acid (AA) の減少、血漿 corticosterone の増加、肝 tryptophan oxygenase (TO) 活性の上昇を示し、ACTH の拮抗的高分泌をひきおこすとしている。reserpine (RP) の ACTH 分泌に及ぼす影響についても同様に、Wells ら³⁴、Kitay ら¹⁸は ACTH 遊離が阻害されるとしている一方、Khazan ら¹⁷は RP による下垂体-副腎皮質軸の活性化を観察しており、また Maickel ら²⁵は RP の鎮静量が、ACTH 分泌を長期に刺激することは認めているが、ストレスに対する副腎皮質の反応性の増加を示すことはできなかったとしている。Westermann ら³⁵も RP によって ACTH 分泌は刺激されるとし、この ACTH 高分泌は下垂体前葉を監視する神経経路に及ぼす RP の作用の結果であることを示唆している。さらに Ashford and Shapero²¹は、RP の 1 回投与は ACTH 分泌を刺激するが、5 日間連日注射した後は刺激しないことを認めている。

このように tranquilizer が視床下部-下垂体-副腎系に及ぼす効果を明確にすることは興味あるところであり、いわゆる major tranquilizer と minor tranquilizer の TO 活性に及ぼす効果を比較した報告はみられない

ので、それぞれに属する二三の薬物が、ラット肝 TO に及ぼす効果を比較検討した。

材料と方法

1. 実験動物

Wistar 系ラット、体重 150~250g の 7~8 週齢の雄を使用した。飼料は日本クレア CE-2、飲料水は水道水を用い、飼育時の室内温度は 20~28°C であった。副腎摘出ラットは pentobarbital 麻酔後、常法にしたがって両側副腎を同時に摘出し、後処置を十分に施して、日本クレア CE-2 と生理食塩液で飼育し、実験には術後 4, 5 日のものを用いた。

2. TO 活性の測定

肝 homogenate について、Knox and Mehler²⁰ に準じて測定したが、hematin を添加した場合 (総活性)、添加しない場合 (ホロ酵素活性) の両者を実施した。酵素活性は kynurenine (KN) 生成 μM /肝湿重量/g/h で表わした。添加する hematin 量は最終濃度 (反応時) で 0.2 μM ^{10,14}、0.3 μM ⁹ および 2 μM ^{2,3,4} などが用いられているが、一応添加 hematin 最終濃度が 0~4 μM の TO 活性を測定したところ、2 から 3 μM の間で大体同程度の最高活性が得られたので、添加する hematin 濃度は最終濃度を 2~3 μM になるようにした。

3. 副腎 AA の測定

Maickel²⁴に準じて測定した。

4. 血漿 corticosterone の測定

Zenker and Bernstein³⁸の方法に従ったが、脱脂質の際石油エーテルのかわりに isooctane を使用した。

5. 薬物ならびに投与法

CPZ は武田薬品工業製の塩酸 CPZ 50mg/kg を腹腔内投与。RP (半井化学薬品製) は少量の水酢酸に溶かした後、蒸留水で溶かし 8mg/kg を腹腔内投与。haloperidol (HPD, 大日本製薬製) は 10 mg/kg を腹腔内

本論文の要旨は、第84回日本獣医学会において発表した。

*千葉県東部家畜保健衛生所

Tobu Livestock Hygiene Service Center, Chiba Prefecture

投与. meprobamate (MPM, 第一製薬製) は経口投与用であったので 200 mg/kg を経口投与. diazepam(DP, 武田薬品工業製) は 10 mg/mg を腹腔内投与. hydroxyzine (HXZ) は武田薬品工業製の塩酸 HXZ 60 mg/kg を腹腔内投与. metyrapone (MRP) は武田薬品工業製の Metopiron 250 mg/kg を経口投与した. なお対照ラットには腹腔内投与では生理食塩水を, 経口投与では蒸留水を与えた.

結 果

1. 肝 TO 活性に及ぼす CPZ, RP, HPD 投与の影響

これらはいずれも major tranquilizer ないし抗精神薬に属する薬物である. Fig. 1 に示すように CPZ 50 mg/kg 腹腔内注射により, 投与 2 時間後にホロ TO 活性は対照ホロ活性値の約 1.3 倍の増加をみせ, 以後ホロ活性, 総活性とも上昇して投与 8 時間に最大となり, ホロ活性は対照の約 4 倍に増加した. 以後どちらも減少しはじめ, 投与後 14 時間でホロ活性は投与後 2 時間の値にもどるが, 総活性はまだ完全に投与後 2 時間の値にもどらなかった.

RP 8 mg/kg, HPD 10 mg/kg を投与した結果は Fig. 2 のとおりである. RP の場合は CPZ, HPD に比べて酵素の誘導の特長が極めて著しく, ホロ活性は投与後 2 時間で対照値の約 1.7 倍の上昇を示し, 8 時間後に約 5 倍の最大活性値を示した. 以後あまり急速な減少

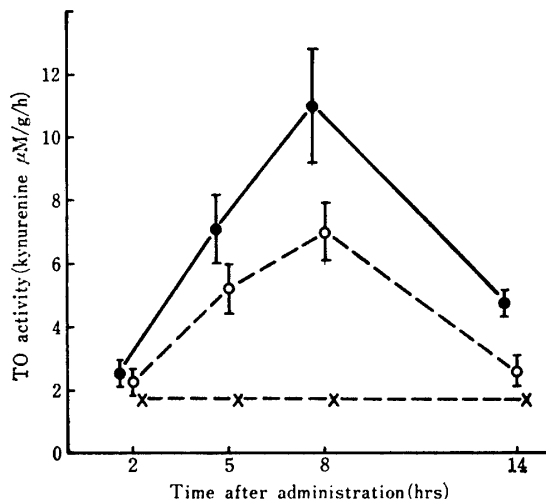


Fig. 1. Effect of chlorpromazine administration on rat liver tryptophan oxygenase activity. Each point represents the mean value for 7 rats, and vertical bars the standard deviation. ○---○: Holo enzyme activity (chlorpromazine 50 mg/kg, intraperitoneally) ●—●: Total enzyme activity (chlorpromazine 50 mg/kg, intraperitoneally) ×---×: Control holo enzyme activity (no chlorpromazine) ×: Control total enzyme activity (no chlorpromazine)

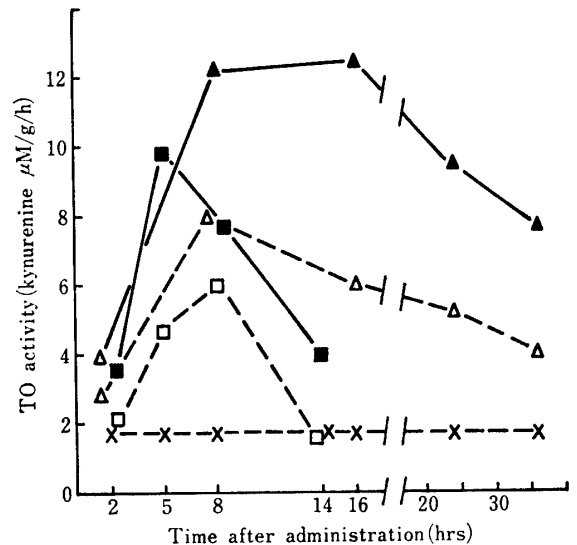


Fig. 2. Effect of reserpine and haloperidol administration on rat liver tryptophan oxygenase activity. △---△ Holo enzyme activity (reserpine 10 mg/kg i.p.) ▲—▲ Total enzyme activity (reserpine) □---□ Holo enzyme activity (haloperidol 10 mg/kg i.p.) ■—■ Total enzyme activity (haloperidol) ×---× Control holo enzyme activity The other note is the same as in Fig. 1 except the abbreviation of standard deviation.

を示さず, 36 時間後でもなお 2.5 倍程度の活性を保っていた. 総活性の減少はさらに遅く, 16 時間まではむしろやや上昇気味であり, 以後減少し始めるが, 36 時間後になお 2 時間値の倍程度の値を示した. HPD の場合のホロ活性値は CPZ の場合よりやや低い程度で, 大体同様な推移を示すが, 総活性値は少し異なり投与 5 時間後に最高値を示した.

2. 肝 TO 活性に及ぼす MPM, DP, HXZ 投与の影響

minor tranquilizer ないし抗不安薬に属する薬物 3 種を投与後の肝 TO 活性を Fig. 3 に示した. DP と HXZ は大体同じ傾向で, 投与 5 時間後にホロ酵素活性は, それぞれ正常値の 1.8, 1.9 倍で最高値を示し, 以後低下して 14 時間後に正常値にもどった. 投与 2 時間後では, HXZ のほうは活性値の増加がやや認められるが, DP の場合は認められなかった. したがってホロ酵素に対しては HXZ のほうが影響を与えているようであるが, 総酵素に対しては 2 時間の場合のみ DP のほうが高い活性値を示した. MPM の場合はこの両者と異なり, 投与 8 時間後のホロ酵素活性が最高で, 正常値の約 1.6 倍の増加であり, 2 時間後には増加はみられず, 14 時間後にはほとんど正常値にもどっ

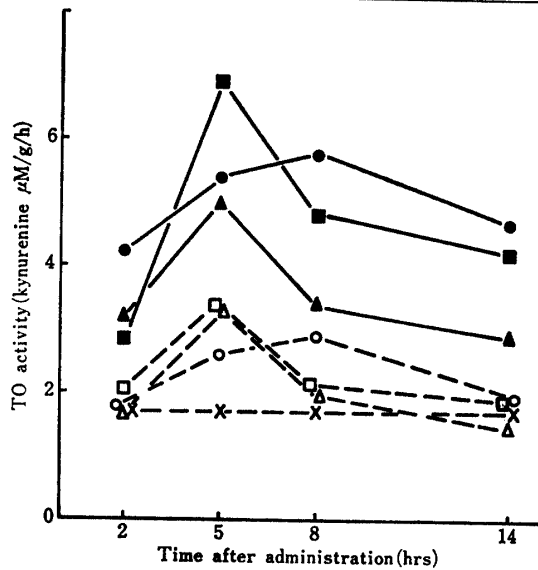


Fig. 3. Effect of meprobamate, diazepam, and hydroxyzine administration on rat liver tryptophan oxygenase activity.

- Holo enzyme activity (meprobamate 200 mg/kg, p.o.)
- Total enzyme activity (meprobamate)
- △---△ Holo enzyme activity (diazepam 10 mg/kg, i.p.)
- ▲---▲ Total enzyme activity (diazepam)
- Holo enzyme activity (hydroxyzine, 10 mg/kg, i.p.)
- Total enzyme activity (hydroxyzine)
- ×---× Control holo enzyme activity

The other note is the same as in Fig. 1 except the abbreviation of standard deviation.

た. いずれにしろ以上3種の minor tranquilizer 投与後のホロ酵素活性は, major tranquilizer 投与後のそれ

に比べて明らかに低く, なかでも RP 投与後のホロ酵素活性の増加は, その持続が長いことがはっきり認められた。

3. major および minor tranquilizer 投与後のホロ TO 活性とアポ TO 活性の動向

major tranquilizer 投与後のホロ活性, アポ活性, 両者の比率を Table 1 に, minor tranquilizer 投与後のそれを Table 2 に示した. CPZ の場合ホロ活性とアポ活性の増減は同様であるが, 比率は投与後2時間のものが最も高く, 2時間までに相当量のアポ酵素がホロ化することを示している. RP の場合の比率も CPZ の場合と大体同様であるが, HPD では8時間後の比率が最も高く, アポ酵素のホロ化が CPZ ほど早くないようである. minor tranquilizer の場合のホロ活性とアポ活性の増減は, 3者ともほぼ同様であるが, 比率は MPM と DP では5時間から8時間後のものが大きい, HXZ は2時間のものが最大であり, 前2者に比べてアポ酵素のホロ酵素化が早いことを示している。

4. 副腎摘出ラットの TO 活性に及ぼす CPZ, RP の影響

Fig. 4 に示すように, 副腎摘出により CPZ による誘導は著しくおさえられるが, それでもある程度の増減カーブが得られ, 最高の5時間後の活性値は0時間のその約1.5倍であった. 副腎摘出ラットにおける CPZ 投与後のホロ酵素とアポ酵素の動向は Table 3 のとおりで, 0時間におけるホロ活性値(1.45)と総活性

Table 1. The change of rat liver tryptophan oxygenase activity after administration of chlorpromazine, reserpine, and haloperidol

Time after administration (hrs)	Treatment	Dose (mg/kg)	Holo enzyme activity	Apo enzyme activity (kynurenine μ M/g/h)	Total enzyme activity	Holo/apo ratio
2	Chlorpromazine	50 i.p.	2.09 \pm 0.43	0.37 \pm 0.10	2.46 \pm 0.45	5.65
5			5.07 \pm 0.99	2.05 \pm 0.33	7.12 \pm 1.13	2.47
8			7.02 \pm 1.07	3.83 \pm 0.37	10.85 \pm 2.10	1.83
14			2.63 \pm 0.45	2.13 \pm 0.25	4.76 \pm 0.28	1.23
2	Reserpine	8 i.p.	2.83 \pm 1.13	1.00 \pm 0.32	3.83 \pm 1.37	2.83
8			7.93 \pm 2.60	4.23 \pm 1.34	12.16 \pm 3.80	1.87
16			6.01 \pm 0.87	6.37 \pm 1.28	12.38 \pm 1.68	0.94
24			5.15 \pm 2.39	4.22 \pm 1.93	9.37 \pm 4.17	1.22
36			4.03 \pm 1.01	3.61 \pm 0.47	7.64 \pm 1.48	1.12
2	Haloperidol	10 i.p.	2.13 \pm 0.47	1.39 \pm 0.35	3.52 \pm 0.74	1.53
5			4.63 \pm 0.50	5.17 \pm 0.49	9.80 \pm 1.92	0.90
8			5.99 \pm 0.90	1.69 \pm 0.45	7.68 \pm 1.08	3.54
14			1.60 \pm 0.29	2.32 \pm 0.89	3.92 \pm 0.45	0.69

Results are given as the mean \pm standard deviation of 7 animals.

Table 2. The change of rat liver tryptophan oxygenase activity after administration of meprobamate, diazepam, and hydroxyzine

Time after administration (hrs)	Treatment	Dose (mg/kg)	Holo enzyme activity	Apo enzyme activity (kynurenine $\mu\text{M/g/h}$)	Total enzyme activity	Holo/apo ratio
2	Meprobamate	200 p.o.	1.77 ± 0.34	2.45 ± 0.51	4.22 ± 0.96	0.72
5			2.69 ± 0.35	2.69 ± 0.44	5.38 ± 1.02	1.00
8			2.89 ± 0.24	2.86 ± 0.71	5.75 ± 0.78	1.01
14			1.92 ± 0.24	2.74 ± 0.45	4.66 ± 0.90	0.70
2	Diazepam	10 i.p.	1.66 ± 0.26	1.55 ± 0.26	3.21 ± 0.41	1.07
5			3.33 ± 0.40	1.66 ± 0.27	4.99 ± 0.43	2.01
8			1.94 ± 0.45	1.49 ± 0.30	3.41 ± 0.71	1.31
14			1.44 ± 0.26	1.48 ± 0.45	2.92 ± 0.53	0.97
2	Hydroxyzine	60 i.p.	2.06 ± 0.50	0.80 ± 0.18	2.86 ± 0.56	2.58
5			3.38 ± 0.61	3.55 ± 0.74	6.93 ± 1.32	0.95
8			2.10 ± 0.37	2.70 ± 0.34	4.80 ± 0.66	0.78
14			1.88 ± 0.21	2.32 ± 0.40	4.20 ± 0.81	0.81

The note is the same as in Table 1.

値 (1.87) は、正常ラットのホロ活性値 (1.81)、総活性値 (3.40) [添加 hematin 量 $2 \sim 3 \mu\text{M}$ で、肝 homogenate 12例について測定した結果、ホロ活性 1.81 ± 0.28 、アポ活性 1.59 ± 0.45 、総活性 3.40 ± 0.48 、ホロ酵素とアポ酵素の比率 1.14 であった。Badawy らはホロ活性と総活性が、それぞれ 1.82, 3.86²⁾ あるいは 1.56, 3.38³⁾ という値を示しており、大体一致していると思われる] に比べて、それぞれ 20%, 45% の減少を示しており、副腎摘出によってホロ活性値も、また hematin とアポ酵素の結合も低下することを示している。ホロ酵素とアポ酵素の比率は、正常ラットにおけると同様、投与後 2 時間が最大であった。

RP の場合は、正常ラット同様 8mg/kg を副腎摘出ラットに腹腔内注射したが、2 時間以内にすべて死亡した。以後 4 mg/kg と 2 mg/kg について実施したが、すべて 2 時間以内に死亡し、残念ながら TO 活性の測定は不可能であった。

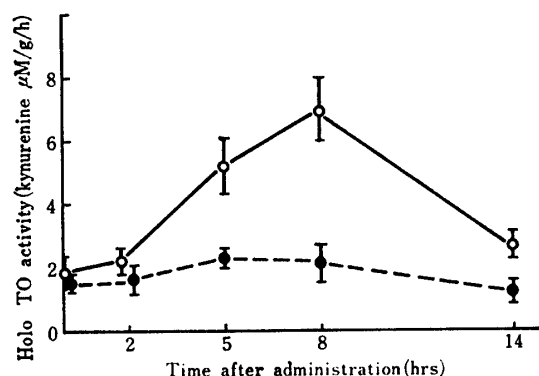


Fig. 4. Effect of chlorpromazine 50 mg/kg on holo tryptophan oxygenase activity in the liver of normal and adrenalectomized rats.

○—○ : normal ●---● : adrenalectomized
Vertical bars indicate standard deviation

Table 3. The effect of chlorpromazine (50 mg/kg) on liver tryptophan oxygenase activities in adrenalectomized rats

Time after administration (hrs)	Holo enzyme activity	Apo enzyme activity (kynurenine $\mu\text{M/g/h}$)	Total enzyme activity	Holo/apo ratio
0	1.45 ± 0.24	0.42 ± 0.21	1.87 ± 0.41	3.45
2	1.65 ± 0.30	0.77 ± 0.11	2.42 ± 0.54	2.14
5	2.23 ± 0.26	0.86 ± 0.27	3.09 ± 0.43	2.59
8	2.11 ± 0.61	1.35 ± 0.47	3.46 ± 0.73	1.56
14	1.24 ± 0.31	1.33 ± 0.38	2.58 ± 0.60	0.93

Results are given as the mean \pm standard deviation of 8 animals.

5. 正常 TO 活性ならびに CPZ, RP の TO 誘導に及ぼす MRP の影響

MRP は副腎皮質ステロイドの中の主要な3つ、すなわち cortisol, corticosterone, aldosterone の生合成の過程において、11- β 位水酸化を選択的に阻害する性質を有し、副腎皮質からのステロイドの分泌を減少せしめるものである。その結果下垂体からの ACTH 分泌を促すことになり、ヒトにおいては dexamethasone 抑制試験と共に、下垂体機能検査法としてルーチン化されていることは、よく知られた事実である。上述の結果から CPZ による TO 誘導は、相当程度副腎皮質を介するものと考えられるが副腎摘出ラットに RP 投与の結果が得られなかったこと、さらに MRP の TO 活性に及ぼす効果についての報告例がみられず、とくに副腎皮質抑制→ACTH 分泌刺激との関連から、MRP の TO 活性に及ぼす影響を観察することは興味あるものと考え、MRP 投与後の TO 活性の動向を調べた。

結果は Table 4 のとおりで、MRP 250 mg/kg の投与により、ホロ酵素活性は投与後8時間ですでに正常値の16.1%の低下を、24時間後には43.4%の低下を示した。以後次第に回復して、40時間では大体正常値にもどっている。またホロ活性が最も低下する24時間

後には、ホロ活性とアポ活性の比率低下も最も大きく、この時期には hematin とアポ酵素の結合も弱まることを示している。

次に MRP 投与が CPZ および RP による誘導に及ぼす効果をみるため、MRP 投与後 TO 活性が最も低下した24時間目と、CPZ, RP 投与後の、それぞれ TO 活性が最高になった8時間、16時間目を重ね合わせた時 (RP の場合もホロ活性は8時間目が16時間目よりやや高いが、総活性をも考慮して RP の場合は16時間目とした)、つまり MRP 250 mg/kg の経口投与後16時間で、CPZ 50 mg/kg を腹腔内注射し、その8時間後に TO 活性を測定し、また MRP 投与8時間後に RP 8 mg/kg を腹腔内注射して、その16時間後に TO 活性を測定した結果のホロ、アポ、総活性ならびにホロ活性の比率を Table 5 に示した。

MRP 投与ラットに CPZ を投与することにより、ホロ活性値は MRP 投与後24時間の活性値の約2.4倍であるが、無処置ラットの活性値とはほとんど変わらず、RP の場合は約2.9倍の増加で、対照値に比べてもやや高い活性値であるが、有意差はなかった。総活性の傾向も大体同様で、CPZ, RP によって MRP のみの場合の活性値の減少は、CPZ では対照値近くに、ま

Table 4. The effect of metyrapone (250 mg/kg, p.o.) on rat liver tryptophan oxygenase activity

Time after administration (hrs)	Holoenzyme activity	Apo enzyme activity (kynurenine μ M/g/h)	Total enzyme activity	Holo/apo ratio
8	1.52 \pm 0.30	1.18 \pm 0.20	2.70 \pm 0.68	1.29
18	0.98 \pm 0.14	0.84 \pm 0.17	1.82 \pm 0.24	1.17
24	0.80 \pm 0.19	1.20 \pm 0.22	2.00 \pm 0.25	0.67
30	1.09 \pm 0.15	0.48 \pm 0.20	1.57 \pm 0.15	2.27
40	1.83 \pm 0.09	1.49 \pm 0.18	3.32 \pm 0.27	1.23

Results are given as the mean \pm standard deviation of 9 animals.

Table 5. The effect of metyrapone on the induction of rat liver tryptophan oxygenase by chlorpromazine and reserpine

Treatment	Holo enzyme activity	Apo enzyme activity (kynurenine μ M/g/h)	Total enzyme activity	Holo/apo ratio
Metyrapone	0.80 \pm 0.19	1.20 \pm 0.22	2.00 \pm 0.25	0.67
Control	1.96 \pm 0.36	1.92 \pm 0.48	3.88 \pm 0.46	1.02
Metyrapone+chlorpromazine	1.94 \pm 0.55	1.42 \pm 0.32	3.36 \pm 0.54	1.37
Control	1.98 \pm 0.42	2.10 \pm 0.40	4.08 \pm 0.22	0.94
Metyrapone+reserpine	2.33 \pm 0.08	2.54 \pm 0.37	4.87 \pm 0.61	0.92

The administration time and method of each drug are described in the text.

Results are given as the mean \pm standard deviation of 7 animals.

た RP の場合は対照値以上に回復した。

6. CRP, RP 投与による血漿 CS の動向

Fig. 5 に示すように, CPZ 50 mg/kg 投与による血漿 CS の変化は, 2 時間後に最大(投与前の約 1.3 倍)となり, 以後次第に減少して 14 時間後には正常値近くまでもどった。RP の場合も 2 時間後に CPZ の場合と同程度になり, 以後 8 時間頃まで同レベルで推移して, 16 時間後にさらに増加し(投与前の約 1.8 倍), 以後減少して 36 時間後には正常値近くまで低下した。

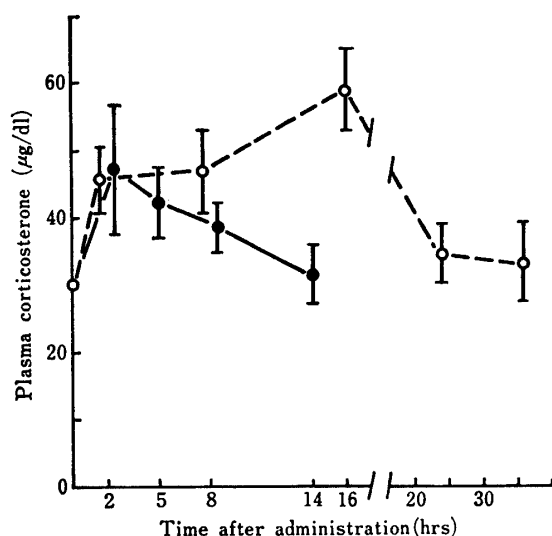


Fig. 5. Effect of chlorpromazine and reserpine administration on the plasma corticosterone level.

●—● Chlorpromazine (50 mg/kg, i.p.)
○---○ Reserpine (8 mg/kg, i.p.)
Vertical bars indicate standard deviation.

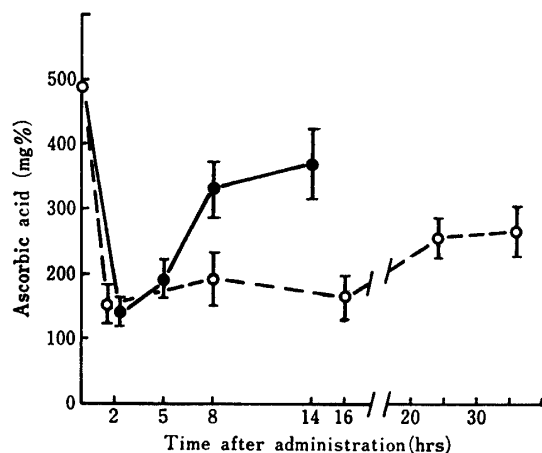


Fig. 6. Effect of chlorpromazine and reserpine administration on the adrenal ascorbic acid level.

●—● Chlorpromazine (50 mg/kg, i.p.)
○---○ Reserpine (8 mg/kg, i.p.)
Vertical bars indicate standard deviation.

7. CPZ, RP 投与後の副腎 AA の動向

副腎 AA の減少はストレス刺激に対する下垂体—副腎系の鋭敏な反応であり, AA を測定することは内分泌学的研究に特に有効とされている²⁴⁾。したがって CPZ, RP 投与後の副腎 AA の動向を調べた。結果は Fig. 6 のとおりで, CPZ, RP を投与した場合の血漿 CS の動向と正反対のパターンを示しており, CPZ 投与によって 2 時間後に投与前の量の 71.4% 減少し, 以後次第に上昇して 14 時間後には 29.1% 減少にまで回復した。RP 投与では 2 時間後に 69.3% 減少し, 以後徐々に回復するが, CPZ の場合に比べてその回復は遅く, 36 時間後にやっと 46.4% 減少にまで回復した。

考 察

Samsonova and Lapin²⁵⁾は, ラットに CPZ の 1mg/kg を投与したところ, TO 活性に影響がなく, 5mg/kg 投与により上昇することを認めており, Dube ら⁸⁾は 50 mg/kg の投与によって, 5 時間以内に約 3 倍の増加を認めている。したがってこの点では CPZ の用量が関係するようであるが, 前述のように多くの薬理学成書では, CPZ は視床下部に直接抑制的に作用するので下体垂前葉からのホルモン分泌によって反応する内分泌腺に対して影響を与え, ACTH 分泌も抑制されるということになっている^{15, 36, 37)}。しかし視床下部の電気刺激によって TO 活性は上昇するという報告³²⁾もあり, 視床下部に抑制的に作用する CPZ は, 大量でも TO 活性を低下せしめることがあるかもしれないという予想の下に, ラットに 50 mg/kg を投与した結果, 8 時間後に約 4 倍の増加を示した (Fig. 1)。したがって少なくとも CPZ の鎮静量以上の 1 回投与では, TO 活性を上昇せしめることは確かであり, また総活性の上昇ぐあいからみて, アポ酵素のホロ酵素化にも影響するものと考えられる。major tranquilizer のうち, butyrophenone 誘導体に属する HPD 10 mg/kg 投与のホロ活性の増減の傾向は CPZ の場合と大体同様であり, ただ活性値の増加が CPZ のときよりやや弱い程度であった。しかし RP 8 mg/kg 投与の結果は, 最高値は CPZ の場合よりやや高い程度であったが, 著しい持続性の誘導効果を示した。HPD は精神安定, 抗精神病作用は CPZ より強いといわれるが, CPZ と大体類似した作用をもつ薬物であり, これに対して RP は中枢における catecholamine (CA) や serotonin (5-HT) を枯渇することが知られ, それが静穏作用の説明に使用されており, 持続性も長く作用も強い薬物である。したがって肝 TO の誘導能の強さと抗精神病作用との間に, ある

程度の関連性があるのではないかと考えられる。

このことはより作用が弱く, major tranquilizer のように自律神経遮断作用や錐体外路症状もおこさないといわれる minor tranquilizer の MPM, DP, HXZ のホロ誘導をみると, さらにその感を深くする。すなわちこれらの薬物では, ホロ酵素活性の最高値は MPM を除いて投与後 5 時間と早くなり, しかもその値も major tranquilizer の 3 者に比べて著しく小さい (Fig. 3, Table 2)。MPM のみ他の 2 つとやや時間的誘導傾向を異にし, 8 時間後に最高値を示すが, その値は DP, HXZ による値より小さいことも興味あるところで, このことも MPM の作用が他の 2 つに比べて弱い (DP, HXZ の治療量は 1 日 15~40 mg であるが, MPM は 400 mg とされている) ことと関連があるかもしれない。

TO が誘導されたり活性化して, tryptophan (Try) → KN の経路が盛んになると, 脳組織 Try 量の減少から, 5-HT 生成が減少することが示唆されている^{6,7,12,13}が, この観点からすると, 脳の 5-HT の動きと肝における Try 代謝, すなわちその主要酵素である TO 活性の動きとは密接な関係があることが予想される。RP の静穏作用については, CA の枯渇と 5-HT の枯渇のいずれが, より関係するかは完全に解明されていないが, 本実験における RP の著しい誘導能からみて, RP の強力な静穏作用には 5-HT のほうがより関係が深いように思われる。

Feigelson and Greengard¹¹) は, Try のみならず cortisone で誘導した場合の TO 活性の増加も, 最高量の hematin レベルの存在下で測定した場合, 単なる酵素の活性ではなく酵素蛋白分子濃度の増加であり, 内因性のアポ酵素が基質により hematin と飽和し, ホロ/アポの比率の増加が TO 合成率の増加を促す刺激因子となるのではないかと推論していることから, Table 1, 2 のホロ/アポの比率をみると, CPZ, RP, HXZ では投与後 2 時間前後, MPM, DP では投与後 5 時間前後, HPD では 8 時間前後が TO 合成率が最も高くなっていると考えられ, CPZ 以外は最大ホロ活性値がホロ/アポの比率の最高値と一致するか, そのやや後にみられている。CPZ の場合は最大ホロ活性値の出現が遅れるが, CPZ としては極めて大量を投与したことが関係するか, あるいは酸化型, 潜在型のホロ酵素の動向が関係することも考えられるので, これらを考慮した方法^{21,23}), in vivo 測定²²)などを試みる必要があるかもしれない。

緒論にあげた文献からみても, これらの tranquilizer による TO 活性の増加が, ストレスによる副腎皮質ホ

ルモンの反応であることが予想されるので, そのうらづけとなる実験を誘導能の比較的強い CPZ と RP についてのみ実施したが, 副腎摘出ラットに CPZ 投与の場合, ホロ活性で正常ラットの 20%, 総活性で 45% 減少しており, Knox and Auerbach の観察¹⁹)と大体一致している。また CPZ による TO 活性の増加も非常に小さられるが, なおある程度の増加がみられる (Fig. 4)。このわずかな増加はストレスによる下垂体-副腎系の反応以外の, たとえば Schor and Frieden³⁰) が insulin によるラット肝 TO 活性の上昇を認め, これが副腎摘出ラットでも, 摘出によって低下した TO 活性の 3 倍程度の上昇があることを観察して, insulin による誘導の一部は副腎に依存しないとしているように, insulin による活性誘導などが考えられるが, 推測の域を出ず, その他の機構によるかもしれない。その他の誘導機構としては, isocarboxazid^{28,29}), salicylate⁴⁰) などでみられる Try 遊離に基づく基質誘導, azathiopurine, triaziquone, cyclophosphamid などの免疫抑制剤による酵素蛋白の分解阻害²⁷), xanthine oxidase や種々の purine 誘導体^{5,16})による不活性なホロ酵素の活性化などが考えられるが, いずれにしろ in vivo 測定や insulin, Try などの血中動態の測定などを行なわなければ, はっきりしたことはいえない。

副腎摘出ラットに CPZ を投与した後のホロ/アポの比率は, 正常ラットの場合と異なり, 比較的変動が少なく, CPZ によるアポ酵素のホロ酵素化が正常ラットの場合より減少することが考えられ, この点も CPZ による TO 誘導に, 副腎皮質が相当の影響をもつことの証拠の一つとなることをうらづけるものであろう。副腎摘出ラットへの RP 投与では, 8, 4, 2 mg/kg のいずれでも 2 時間以内に全ラットが死亡したので, TO 活性は測定できなかったが, これは RP の強さを証明するのみならず, 血圧下降などの影響もあるものと思われる。

副腎摘出動物への RP の影響が観察できなかったので, 副腎摘出に変わるものとして MRP 投与を試みたが, TO 活性は 24 時間後に正常ラット対照値の 43.4% に低下し, 40 時間後には正常値近くまで回復した。この回復は副腎皮質ステロイドの減少が下垂体に feedback し, ACTH 分泌を促したためと思われる。いずれにしろ MRP 投与によって TO 活性が低下することは明らかであり, Table 4 に示したホロ/アポの比率からみても, 投与後 24 時間前後が最も合成率が低下し, 40 時間後には正常ラットの TO 合成率に近づいているといえる。すなわち投与 24 時間前後が, 副腎皮質ステロ

イドの減少によって、TO 活性も TO 合成も最も減退しているものと考えられる。

副腎摘出ラットにおける CPZ の影響でみられるように、CPZ, RP 投与による TO 活性の増加が、ストレスによる副腎皮質ステロイドの分泌によっておこっているならば、MRP 投与によりステロイドの分泌が減少した時期に、CPZ, RP を投与しても TO 活性は増加しないはずである。そこで前述した理由から MRP 投与16時間後に CPZ を投与して、その8時間後に、また MRP 投与8時間後に RP を投与して、その16時間後に TO 活性を測定したところ、正常ラットに CPZ 投与の場合の約4倍の増加が2倍程度、正常ラットに RP 投与の場合の約5倍の増加が1.5倍程度におさえられている。したがって MRP 投与の結果からも CPZ, RP による TO 誘導は、その多くが副腎を介するものであり、一部が副腎摘出ラットのところで述べたように、insulin その他の機構によるものと考えられる。

緒論で述べたように RP, CPZ による ACTH の高分泌については両論があり意見が一致していない。これらの相違には用量も関係するらしく、たとえば CPZ が下垂体-副腎系を活性化するためには鎮静量以上が必要といわれている³³⁾。いずれにしろ ACTH の高分泌があれば、ラットの主要な副腎皮質ステロイドである CS の血漿濃度は増加するはずである。本実験の結果では、血漿 CS は CPZ の大量 (50 mg/kg) 投与によって2時間後に最大となり、14時間後には正常値近くまでもどっており、また RP の 8 mg/kg 投与では16時間後に最高値を示し、36時間後には正常値近くまで低下している。したがってこれらの薬物によって、まず副腎皮質から CS が血中に分泌増加し、これが肝 TO 合成率を高めて TO 活性を増加せしめ、CS 分泌の減少に伴って TO 合成率が減少し、その後 TO 活性も減少してくるといえる。RP の場合は薬理作用の持続が長いので、TO 活性が最高になる時間と血漿 CS レベルが最高になる時間が一致しているのであろう。

この誘導機構にさらに下垂体も関与するかどうかをみるため、ラットでは ACTH 分泌の指標として使われている副腎 AA 減少の有無を調べたが、この変化は血漿 CS レベルの変化と正反対の動向を示しており、これらの変化と CPZ, RP 投与後のホロ酵素活性の動きを、正常値との%変化で示すと Fig. 7 のとおりになる。副腎皮質における AA の副腎皮質ステロイド合成に及ぼす意義については、なお論議の余地があるが、一応ラットでは副腎における AA 消費は、下垂体からの ACTH 放出によりステロイドの生合成が盛んにな

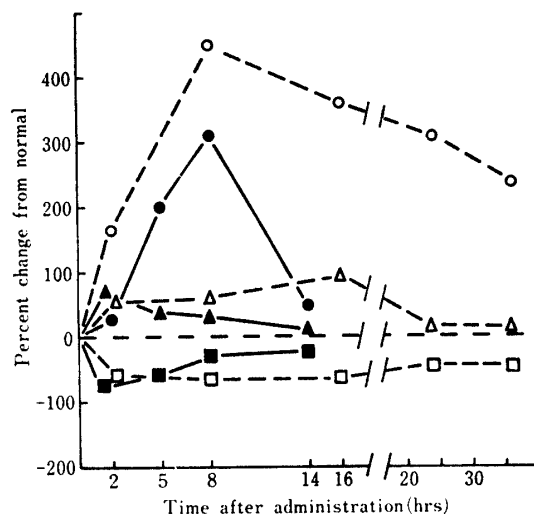


Fig. 7. Pituitary-adrenal responses of rats to chlorpromazine and reserpine.

- TO activity (CPZ, 50 mg/kg, i.p.)
- TO activity (reserpine, 8 mg/kg, i.p.)
- ▲—▲ Plasma corticosterone level (CPZ)
- △---△ Plasma corticosterone level (reserpine)
- Adrenal ascorbic acid level (CPZ)
- Adrenal ascorbic acid level (reserpine)

るためと考えられ、両薬物投与後2時間の血漿 CS と副腎 AA レベル減少とが一致することは、この前後に最も活発な合成が行われることを示すものと思われる。ただ ACTH による副腎皮質 AA の消費はステロイド分泌に先だって行われ、これは副腎静脈中に放出されるが、副腎皮質からのステロイドの分泌と AA の減少は必ずしも相伴うものでなく、ある条件下では両者が完全に解離しうることも知られており、血漿 CS の最高が副腎 AA の最低より遅れてもよいと思うが、これは投与後3,4時間の値を調べればはっきりするかもしれない。またこの両薬物のどちらにおいても副腎 AA の回復が遅く、CPZ 投与14時間後で対照の70.9%, RP 投与36時間後で53.6%であって、まだ完全に回復しておらず、Smith³³⁾が CPZ 10 mg/kg 腹腔内投与で、副腎 AA は20時間後に対照より10%ほど増加している点と一致しないが、本実験の場合 50 mg/kg という大量投与のためかもしれない。いずれにしろ CPZ, RP の投与による TO 活性増加は、その大部分が下垂体-副腎系の反応で調節されており、一部が未知の機構によるものと考えられる。なお下垂体-副腎系の反応に、その前段階として視床下部が関連するか否かは、Ashford and Shapero¹⁾は hydrocortisone 前処置により、これらの薬物のストレス作用がブロックされることから、その可能性を示唆しているけれども、これらの薬物が本来視床下部抑制作用をもつこと、視床下

部の電気刺激により TO 誘導の事実があること³²⁾などからみて、この点はなお問題であり今後の研究をまたねばならない。

要 約

数種の tranquilizer がラット肝 TO に及ぼす影響を検討し、次の結果を得た。

1. ラットに major tranquilizer の CPZ, RP, HPD, minor tranquilizer に属する MPM, DP, HXZ を投与することにより、すべて TO 活性が増加し、major tranquilizer による誘導は minor tranquilizer による誘導よりも明らかに大であった。

2. major tranquilizer の中、CPZ と HPD による TO 活性増減の傾向は大体同じであるが、RP によるそれは相当異なり、TO 誘導の持続が極めて著しかった。

3. 使用したすべての tranquilizer により、アポ酵素のホロ酵素化が強められた。

4. 副腎摘出ラットの TO 活性は正常ラットより 20% 減少した。副腎摘出ラットに CPZ を投与すると、正常ラットの場合と比べて TO 活性は著しくおさえられたが、なおわずかな増加が認められた。ホロ酵素活性とアポ酵素活性の比率も変化した。副腎摘出ラットに RP 投与の場合は、8, 4, 2 mg/kg のいずれの投与でも 2 時間以内に死亡するため、TO 活性の変動は観察できなかった。

5. 副腎皮質ホルモン分泌を抑制する MRP の投与によって、TO 活性は 24 時間後に最も低下し、40 時間後に正常値に回復した。MRP 投与ラットに CPZ, RP 投与により、正常動物にみられるような TO 活性の増加は認められなかった。

6. CPZ, RP 投与によって血漿 CS は 2 時間後に最大となり、CPZ の場合は 14 時間後にほぼ正常値にもどったが、RP 投与ではさらに増加して、16 時間後に最高となり、以後減少して 36 時間後にほぼ正常値にもどった。

7. CPZ, RP 投与により副腎 AA は 2 時間後に最低となり、以後次第に回復に向かうが、CPZ では 14 時間後に投与前の 29.1% 減少まで回復し、RP では 36 時間後でもなお 46.4% の減少であった。

以上の結果から tranquilizer による肝 TO の誘導は、その作用の強さと関連すること、その誘導は主に下垂体-副腎系を介するものであるが、一部未知の機構によるものであることが示唆される。

文 献

- 1) Ashford, A. and Shaper, M.: Effect of chlorpromazine, reserpine, benactyzine and phenobarbitone on the release of corticotrophin in the rat. *Brit. J. Pharmac.*, **19**, 458-463 (1962)
- 2) Badawy, A. A. B. and Evans, M.: The mechanism of inhibition of rat liver tryptophan pyrrolase activity by 4-hydroxypyrazolo(3,4-d)pyrimidine (Allopurinol). *Biochem. J.*, **133**, 585-591 (1973)
- 3) Badawy, A. A. B. and Evans, M.: The effects of chemical porphyrins and drugs on the activity of rat liver tryptophan pyrrolase. *Biochem. J.*, **136**, 885-892 (1973)
- 4) Badawy, A. A. B. and Smith, M. J. H.: The effects of salicylate on the activity of rat liver tryptophan pyrrolase in vitro and in vivo. *Biochem. J.*, **123**, 171-174 (1971)
- 5) Chytil, F.: Activation of liver tryptophan oxygenase by adenosine 3',5'-phosphate and by other purine derivatives. *J. Biol. Chem.*, **243**, 893-899 (1968)
- 6) Curzon, G. and Bridges, P. K.: Tryptophan metabolism in depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, **33**, 698-704 (1970)
- 7) Curzon, G. and Green, A. R.: Effects of immobilization on rat liver tryptophan pyrrolase and brain 5-hydroxytryptamine metabolism. *Brit. J. Pharmac.*, **37**, 689-697 (1969)
- 8) Dube, D. K., Dutta, H. N. and Ghosh, J. J.: Effect of chlorpromazine on induction of different hepatic enzymes. *Biochem. Pharmac.*, **21**, 2249-2251 (1972)
- 9) Feigelson, P. and Greengard, O.: A microsomal iron-porphyrin activator of rat liver tryptophan pyrrolase. *J. Biol. Chem.*, **236**, 153-157 (1961)
- 10) Feigelson, P. and Greengard, O.: Regulation of liver tryptophan pyrrolase activity. *J. Biol. Chem.*, **237**, 1908-1913 (1962)
- 11) Feigelson, P. and Greengard, O.: Immunochemical evidence for increased titers of liver tryptophan pyrrolase during substrate and hormonal enzyme induction. *J. Biol. Chem.*, **237**, 3714-3717 (1962)
- 12) Green, A. R. and Curzon, G.: Decrease of 5-hydroxytryptamine in the brain provoked by hydrocortisone and its prevention by allopurinol. *Nature*, **220**, 1095-1097 (1968)
- 13) Green, A. R. and Curzon, G.: The effect of tryptophan metabolites on brain 5-hydroxytryptamine metabolism. *Biochem. Pharmac.*, **19**, 2061-2068 (1970)
- 14) Greengard, O., Smith, M. A. and Acs, G.: Relation of cortisone and synthesis of ribonucleic acid to induced and developmental enzyme formation. *J. Biol. Chem.*, **238**, 1548-1551 (1963)
- 15) 伊藤 宏: 薬理学, p. 141, 栄光堂, 東京 (1976)
- 16) Julian, T. A. and Chytil, F.: A two-step mechanism for regulation of tryptophan pyrrolase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **35**, 734-740 (1969)
- 17) Khazan, N., Sulman, F. G. and Winnik, H. Z.: Activity of pituitary-adrenal cortex axis during acute and chronic reserpine treatment. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **106**, 579-581 (1961)
- 18) Kitay, J. I., Holub, D. A. and Jailer, J. W.: Inhibition of pituitary ACTH release after administration of reserpine or epinephrine. *Endocrinol.*, **65**, 548-554 (1959)
- 19) Knox, W. E. and Auerbach, U. H.: The hormonal control

- of tryptophan peroxidase in the rat. *J. Biol. Chem.*, **214**, 307-313 (1955)
- 20) Knox, W. E. and Mehler, A. H.: The conversion of tryptophan to kynurenine in liver. I. The coupled tryptophan peroxidase-oxidase system forming formylkynurenine. *J. Biol. Chem.*, **187**, 419-430 (1950)
 - 21) Knox, W. E., Piras, M. M. and Tokuyama, K.: Tryptophan pyrrolase of liver. I. Activation and assay in soluble extracts of rat liver. *J. Biol. Chem.*, **241**, 297-303 (1966)
 - 22) Madras, B. K. and Sourkes, T. L.: Formation of respiratory $^{14}\text{CO}_2$ from variously labelled forms of tryptophan- ^{14}C in intact and adrenalectomized rats. *Arch. Biochem. Biophys.*, **125**, 829-836 (1968)
 - 23) Mahfouz, M. and Ezz, E. A.: The effect of reserpine and chlorpromazine on the response of the rat to acute stress. *J. Pharmac. Exp. Therap.*, **123**, 39-42 (1958)
 - 24) Maickel, R. P.: A rapid procedure for the determination of adrenal ascorbic acid. Application of the Sullivan and Clarke method to tissues. *Anal. Biochem.*, **1**, 498-501 (1960)
 - 25) Maickel, R. P., Westermann, E. O. and Brodie, B. B.: Effects of reserpine and cold exposure on pituitary-adrenocortical function in rats. *J. Pharmac.*, **134**, 167-175 (1961)
 - 26) Nasmyth, P. A.: The effect of chlorpromazine on adrenocortical activity in stress. *Brit. J. Pharmac.*, **10**, 336-339 (1955)
 - 27) Reinicke, C., Gutmacher, H. and Ulbricht, W.: Influence of nonsteroid anti-inflammatory and immunosuppressive drugs on hepatic tryptophan pyrrolase activity in rats. *Biochem. Pharmac.*, **22**, 195-203 (1973)
 - 28) Samsonova, M. L. and Lapin, I. P.: Antidepressants and liver tryptophan pyrrolase activity. *Biochem. Pharmac.*, **22**, 1499-1507 (1973)
 - 29) Satoh, J.: Activation of liver tryptophan pyrrolase of rat by isocarboxazid in vivo. *Enzyme*, **12**, 124-128 (1971)
 - 30) Schor, J. M. and Frieden, E.: Induction of tryptophan peroxidase of rat liver by insulin and alloxan. *J. Biol. Chem.*, **233**, 612-618 (1958)
 - 31) Schutz, G. and Feigelson, P.: Expression of total enzyme activity by means of thermal activation of hepatic tryptophan oxygenase. *Analyt. Biochem.*, **46**, 149-155 (1972)
 - 32) Shimazu, T.: Role of the hypothalamus in the induction of tryptophan pyrrolase activity in rabbit liver. *J. Biochem.*, **55**, 163-171 (1964)
 - 33) Smith, R. L., Maickel, R. P. and Brodie, B. B.: ACTH-hypersecretion induced phenothiazine tranquilizers. *J. Pharmac. Exp. Therap.*, **139**, 185-190 (1963)
 - 34) Wells, H., Briggs, F. N. and Munson, P. L.: The inhibitory effect of reserpine on ACTH secretion in response to stressful stimuli. *Endocrinol.*, **59**, 571-579 (1956)
 - 35) Westermann, E. O., Maickel, R. P. and Brodie, B. B.: On the mechanism of pituitary-adrenal stimulation by reserpine. *J. Pharmac. Exp. Therap.*, **138**, 208-217 (1962)
 - 36) 山田重男ら: 薬理学, p.169, 講談社, 東京 (1976)
 - 37) 柳浦才三: 図説薬理学, p.79, 朝倉書店, 東京 (1977)
 - 38) Zenker, N. and Bernstein, D. E.: The estimation of small amount of corticosterone in rat plasma. *J. Biol. Chem.*, **231**, 695-701 (1958)

Summary

The effects of some tranquilizers on liver tryptophan oxygenase were investigated in rats.

1. Liver tryptophan oxygenase activity was promoted, respectively, by a single administration of chlorpromazine (50 mg/kg), reserpine (8 mg/kg) and haloperidol (10 mg/kg) belonging to the major tranquilizer as well as by the administration of meprobamate (20 mg/kg), diazepam (10 mg/kg) and hydroxyzine (60 mg/kg) belonging to the minor one. Effects of major tranquilizers were clearly larger than those of minor ones.

2. Although, among the major tranquilizers, chlorpromazine and haloperidol showed almost the same effects on the enzyme activity, reserpine showed a very long induction-duration different from those in the above mentioned two drugs.

3. The conversion of apoenzyme into holoenzyme was intensified by the administrations of all tranquilizers tested.

4. The holoenzyme activity was deteriorated by 20 percent in adrenalectomized rats in comparison with that in intact animals. By adrenalectomy, the rise of the activity after chlorpromazine injection was markedly depressed also, but the slight increase was still found, and some changes in the ratio of holoenzyme to apoenzyme were also observed. The change of enzyme activity after reserpine injection failed to be observed in the adrenalectomized rats, because all the operated rats administered 8, 4, and 2 mg/kg of reserpine, died within 2 hours after the injection.

5. The administration of metyrapone inhibiting the biosynthesis of adrenocortical hormone caused a maximal deterioration of tryptophan oxygenase activity 24 hours after it, but it was made to be returned to normal 40 hours after. The administration of chlorpromazine or reserpine to rats pretreated with metyrapone showed no such increase of tryptophan oxygenase activity as shown in the intact animals.

6. The plasma corticosterone level was noted to be maximal 2 hours after the administration of chlorpromazine or reserpine. It returned to normal value 14 hours after chlorpromazine administration, but it rose to the highest value 16 hours after reserpine administration, then it gradually decreased and returned to nearly normal value 36 hours after.

7. The adrenal ascorbic acid level was decreased to minimum 2 hours after chlorpromazine or reserpine administrations, thereafter it gradually returned to normal. Although it returned to 29.1 percent reduction of normal value 14 hours after chlorpromazine administration, it still showed 46.4 percent reduction 36 hours after reserpine administration.

From these results, it was suggested that the induction of liver tryptophan oxygenase by tranquilizers might be influenced by these drugs' actions, and the induction might be modulated chiefly by a pituitary-adrenal system and partly by some unknown mechanisms.