薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
103 (5) 544-552 (1983)

ラット脳および末梢組織セロトニン量におよぼす DL-3-Pyridylalanine
および 5-Hydroxy-L-tryptophan の併用投与の影響

占野廣司,* 福元洋子, 戸田晶久, 永松淳雄
福岡大学薬学部

Effects of Combined Administrations of DL-3-Pyridylalanine and 5-Hydroxy-L-tryptophan on Brain and Peripheral Tissue Serotonin Contents in Rats

HIROSHI SHIMENO,* YOKO FUKUMOTO, AKIHISA TODA, and ATSUO NAGAMATSU
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University,
19-1, Nanakuma 8-chome, Jonan-ku, Fukuoka

(Received November 17, 1982)

1) Repeated administration of 5-hydroxy-L-tryptophan (5-HTP, 5, 10 or 50 mg/kg/d, 7 d) did not produce any further increase in brain serotonin (5-HT) content in Wistar male rats as compared with that found in animals given a single dose of 5-HTP. On the other hand, 5-HT content in peripheral tissues (liver, kidney, spleen and small intestine) increased more after the repeated administration of 5-HTP than after a single dose of this compound. The accumulation of 5-HT in these tissues increased with an increase in the dosage and the number of administration times of 5-HTP.

2) Brain 5-HT content increased more and maintained a high level by the combined administration of DL-3-pyridylalanine (3-PA, 100 mg/kg) with 5-HTP (5 or 10 mg/kg) than by the single administration of these compounds; the effect was additive.

Liver, kidney, spleen and small intestine 5-HT contents after the combined administration of 3-PA and 5-HTP were not different from those after the single administration of 5-HTP.

3) The efficacy of combined administration of 3-PA and 5-HTP was further confirmed by the results of the determination of tryptophan (Trp)-5-HT metabolizing enzyme activities (Trp pyrrolase, Trp 5-hydroxylase, 5-HTP decarboxylase and monoamine oxidase) and pharmacological experiment (conditioned avoidance response) in rats given these compounds.

4) Data are discussed in relation to the side effect of 5-HTP for the treatment of depression.

Keywords—5-hydroxy-L-tryptophan; DL-3-pyridylalanine; brain serotonin content; peripheral tissue serotonin content; repeated administration; combined administration; tryptophan 5-hydroxylase; tryptophan pyrrolase; conditioned avoidance response

著者らは先に DL-3-pyridylalanine (3-PA) が serotonin (5-HT) 前駆体, 5-hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) と異なり, 末梢臓器 5-HT 含量に影響することなくラット脳 5-HT 量を増加させ, しかもその作用が長時間にわたって持続することを明らかにした。また, この作用が 3-PA による肝臓 tryptophan pyrrolase (TP) 活性の阻害とそれに続く血清遊離 tryptophan (Trp) 濃度の上昇に依存していることもあわせて報告した。¹⁾ 一方, 5-HTP は生体内各組織において 5-HTP decarboxylase の作用を受け 5-HT を生成する。5-HTP 投与後の脳 5-HT 濃度の上昇持続は短かく, 投与数時間内に非投与レベルに低下するのに反し, 腎を除く末梢組織 5-HT 量の減少は比較的緩慢である。¹⁾ 近年, 5-HTP は抗うつ剤として臨床試用され, ある程度の効果を挙げているものの, その連続使用によって胃腸障害等の副作用の発現が報告されている。²⁾ 5-HT は中枢神経系において伝達物質の 1 つとして機能しているが, 末梢組織においても平滑筋収縮作用をはじめとする種々の生理作用を有することが知られている。³⁾ 従って, 生体各組織の 5-HT 含量をあまねく上昇させる 5-HTP を使用した場合, その投与量ならびに投与期間がこうした副作用発現に大きく関係してくるのではないかと推察される。

本報告において我々は、ラットに 5-HTP を連続投与し、末梢組織 5-HT 含量が 5-HTP の投与量および期間の増大に従い上昇してくることを述べる。更に、3-PA との併用投与によって 5-HTP 使用量の軽減化を試み、脳および末梢組織 5-HT の消長に関し良好な結果を得たので報告する。

実験方法

試薬 3-PA は、Niemann らの方法⁴⁾を用いて合成した。5-HTP は半井化学製、5-HT creatinine sulfate は Merck 社製、ウシ血液ヘマチンは Sigma 社製、そしてレセルピン注射液は第一製薬製のものをそれぞれ用いた。その他の試薬は、全て和光純薬の特級品を使用した。

使用動物および投与方法 Wistar 系雄性ラット（条件回避反応：230—250 g, その他：130—160 g）を用いた。3-PA および 5-HTP は 0.9% 食塩水溶液とし、皮下注射により投与した。連続投与実験では、1 日 1 回宛投与した。また、対照群ラットには 0.9% 食塩水を注射した。動物は屠殺前一夜絶食後、5-HT および酵素の日内変動を考慮し、常に同一時間（14:20—14:30）に断頭により殺した。臓器は直ちに摘出し、氷冷した食塩水で洗滌後、濾紙で水分を取り測定用試料とした。血液は 37°C の温浴に数分間浸し、十分凝固させた後 3000 rpm で 15 分間遠心分離して血清を得た。

5-HT の定量 全脳、肝臓、腎臓および脾臓 5-HT 量は、Barchas らの方法⁵⁾にて測定した。小腸および血清 5-HT は、前報記載の方法¹⁾に従って抽出した後、Barchas らの方法を準用した。実験毎に標品 5-HT を用い回収率（臓器により多少の変動あるが、86—98% であった）を算出し、実測値を補正した。

酵素活性の測定 Trp-5-hydroxylase は、前報記載のごとく Friedman らの方法⁶⁾を若干修正して測定した。5-HTP decarboxylase は、Lovenberg らの方法⁷⁾にて活性を測定した。Monoamine oxidase (MAO) 活性の測定は、Karki らの方法⁸⁾を修正した前報記載の方法¹⁾によった。TP 活性は、ヘマチン添加下 Kewitz らの方法⁹⁾を用いて測定した。

条件回避反応 装置は、両 compartment の床が高さ 5 cm の段違いになっている two-compartment shuttle box を用いた。¹⁰⁾ 回避条件付けは、条件刺激として 400 Hz, 70 db の単音を 5 秒間与え、この間ラットが他方の compartment に移動しなければ、無条件刺激として床の grid に 30—50 V の交流電流を与えた。5 秒以内にラットが移動すれば、音刺激は中断した。1 日 20 試行させ 16 試行以上の回避が出来、その成績が連続 3 日以上続いたものを選んで実験に使用した。被験化合物の投与は、レセルピン (0.5 mg/kg, 皮下) 処理 15 分後に行った。回避率の算出は、次式によった。

$$\frac{\text{レセルピンおよび被験化合物投与後の回避回数}}{\text{レセルピン投与前の回避回数}} \times 100$$

なお、有意差の検定は、student の t 検定によった。

結果および考察

脳および末梢組織 5-HT 量におよぼす 5-HTP 連続投与の影響

5-HTP 5, 10 および 50 mg/kg をそれぞれラットに 1 回または 7 回投与し、最終投与 24 時間後に脳をはじめとする各組織の 5-HT 量を測定した。その結果を Table I に一括して示した。

Table I から明らかなように、脳 5-HT 量は 5-HTP の投与量あるいは投与回数のいかに拘らず、最終投与 24 時間後には対照群 (0.9% 生理食塩水投与) ラットの脳 5-HT 含量との間に有意な差がなかった。即ち、5-HTP 投与により生成した脳 5-HT は、速やかに減少し、連続投与による脳 5-HT の高含量維持は、期待出来ないことが判明した。先に我々は 50 mg/kg の 5-HTP をラットに 1 回投与した時、脳 Trp-5-hydroxylase と 5-HTP decarboxylase の活性低下が起きることから、これが脳 5-HT 量の速やかな減少の原因であろうと示唆した。¹⁾ 5-HTP 連続投与による今回の結果は、こうした現象が明確に現われたためではないかと考えられる。

一方、脳と同じく 5-HTP 投与 24 時間後に測定した肝、脾および小腸の 5-HT 含量は (Table I), 5-HTP の投与量および回数の増加に伴いその上昇が認められた。特に 50 mg/kg, 7 回投与群では、これらの臓器 5-HT 量は対照群の約 2 倍に増加した。これに対し、腎では 5-HTP 最終投与 24 時間後に測定した 5-HT 量は、50

TABLE I. Effect of Repeated Administration of 5-Hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) on Various Tissue Serotonin (5-HT) Contents in Rats

Dose (mg/kg)	No. of administration time	No. of animals	5-HT $\mu\text{g/g}$ tissue wet wt.				
			Brain	Liver	Kidney	Spleen	Small intestine
Control (0)	0	5	0.426 ± 0.011	0.558 ± 0.011	0.346 ± 0.006	4.05 ± 0.18	6.14 ± 0.08
5	1	6	0.430 ± 0.014	0.548 ± 0.028	0.349 ± 0.016	4.00 ± 0.23	6.06 ± 0.17
	7	5	0.429 ± 0.013	0.570 ± 0.051	0.380 ± 0.022	4.58 ± 0.27	6.45 ± 0.14
10	1	6	0.399 ± 0.018	0.653 ^{b)} ± 0.022	0.345 ± 0.011	4.76 ^{a)} ± 0.23	6.51 ± 0.24
	7	5	0.417 ± 0.012	0.712 ^{c)} ± 0.027	0.354 ± 0.018	5.78 ^{c)} ± 0.18	7.24 ^{b)} ± 0.23
50	1	5	0.442 ± 0.016	0.724 ^{a)} ± 0.060	0.556 ^{c)} ± 0.040	6.59 ^{c)} ± 0.25	7.55 ^{c)} ± 0.18
	7	5	0.411 ± 0.011	1.070 ^{c)} ± 0.062	0.420 ^{a)} ± 0.027	9.42 ^{c)} ± 0.43	11.50 ^{c)} ± 0.27

Each tissue 5-HT contents were determined at 24 h after the final administration of 5-HTP (5, 10 or 50 mg/kg, subcutaneous). When the drug was given repeatedly, the administration was carried out once daily. Values represent the means $\pm$ S.E.

Significance of difference from control (0.9% NaCl-treated):

a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$, c) $p < 0.001$.

mg/kg 投与群（1回および7回投与群共）にのみ有意な増加が見られた（Table I）。しかし、5-HTP 投与直後の腎 5-HT 含量の増加は著しく、5-HTP 1回投与2時間後に測定した場合、10 mg/kg で対照群（ $0.309 \pm 0.007 \mu\text{g/g}$ wet wt.）の5.4倍（ $1.67 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$ ）、50 mg/kg で40倍（ $13.72 \pm 3.42 \mu\text{g/g}$ ）に達した。また、腎組織の壊死によると思われる脱色斑が10 mg/kg、7回投与群と50 mg/kg 投与群（1回および7回共）で観察された。特に50 mg/kg、7回投与ラットの腎は、損傷著しく凹凸不整となり、その重量は対照ラット腎の1.5倍であった。

このような腎障害の発現は、腎における 5-HT 代謝様式の違いに基づくラット特有のものであるとされている。¹¹⁾ しかし、5-HTP 投与の結果生成する腎 5-HT の含量増加が原因となっていることは明らかであり、¹²⁾ このことは比較的低用量の 5-HTP 連続投与によってすら組織 5-HT 量が次第に蓄積する傾向を示した肝、脾および小腸などにも何らかの障害が誘発される可能性を暗示するものである。海野らも家兎に 5-HTP を投与後、末梢臓器 5-HT の消長を検討し、腎をはじめとする各種臓器で著しい 5-HT 濃度の上昇を見ている。その結果から彼らは、5-HTP 使用に際しては腎障害、肝障害等に十分な注意を払うべきであろうと述べている。¹³⁾ 多彩な生理作用を持つ 5-HT が、これら末梢臓器で必要以上に増加することは、望ましい状態とは考えられない。

そこで、上昇率には限界があるものの（対照群ラット脳 5-HT 量に比べ、20% 弱の上昇¹¹⁾）、脳 5-HT 量のみを増加させる 3-PA と併用し、5-HTP 使用量の軽減化を試みた。

脳および末梢組織 5-HT 量におよぼす 5-HTP および 3-PA の併用投与の影響

i) 5-HTP 投与量の影響 前報の結果¹¹⁾に基づき、3-PA は確実に脳 5-HT 量を増加させ得る 100 mg/kg を屠殺24時間前に、5-HTP (2.5, 5, 10 mg/kg) は屠殺4時間前にそれぞれ単独または併用投与した。屠殺後直ちに脳、血清および末梢臓器 5-HT 量を測定し、その結果を Fig. 1 (脳 5-HT 量) および Table II (血清および末梢臓器 5-HT 量) に示した。

Fig. 1 に示したように、5-HTP 2.5 mg/kg 単独投与群の脳 5-HT 量は、対照レベルであったが、5 および 10 mg/kg 群では、対照群脳 5-HT 量に比べそれぞれ 11% および 18% の上昇を示した。一方、3-PA 単独投与群の脳 5-HT 量は 16% 増加した。両化合物併用群における脳 5-HT 量は、それぞれの単独投与時に比べほぼ相加的な増加が見られた。5-HTP 5 mg/kg と 3-PA 併用群の脳 5-HT 増加率は 24% であり、5-HTP 10 mg/kg 単独投与よりも高値を示した。また、5-HTP 10 mg/kg と 3-PA 併用群では 30% の脳 5-HT 増加率を示し、それぞれの単独投与群を大きく上回った。

Table II から明らかなように、各投与群における血清 5-HT 量の消長は、脳 5-HT 量の変化をほぼ反映していた。一方、血清 5-HT と同様に 5-HTP 投与 4 時間後に測定した末梢組織 5-HT 量は、すべて対照レベルに止まった小腸を除き、5-HTP の投与量が増すに従い上昇したが、3-PA との併用群と 5-HTP 単独投与群との間には、ほとんど差がなかった (Table II)。従って、3-PA と併用しても末梢組織 5-HT 量が、5-HTP 単独投与時以上に増加することは無いことが判明した。

ii) 5-HTP 投与後の経時的影響 3-PA 処理ラット (100 mg/kg, 屠殺 24 時間前投与) に 5-HTP 5 mg/kg を投与し、脳をはじめとする各組織 5-HT 量を経時的に測定した。

Fig. 2 に示したように、5-HTP 単独投与群の脳 5-HT 量は、投与 2 時間後対照群に比べ約 10% 増加したが、6 時間後には、ほぼ対照レベルに戻った。これに対し 3-PA との併用群の脳 5-HT 量は、各測定時共 5-HTP 単独投与群より高値を示し、24 時間後においても有意に増加していた。また、3-PA 単独投与群に比べても同様に高値を示し、4 時間後までは有意差 ($p < 0.05$) が認められた。

Fig. 1. Effects of DL-3-Pyridylalanine (3-PA) and 5-Hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) on Brain Serotonin (5-HT) Contents in Rats, Alone and in Combinations

3-PA (100 mg/kg) was subcutaneously administered to rats at 24 h before death. Each control and 3-PA-treated rats received, 4 h before being killed, a subcutaneous injection of either 0.9% NaCl or 5-HTP (2.5, 5, or 10 mg/kg). Brain 5-HT contents were determined as described in the Methods section.

Vertical bars represent the means $\pm$ S.E. for 6 animals per group.

Significance of difference from control: a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$, c) $p < 0.001$.

Significance of difference from corresponding 5-HTP group: d) $p < 0.05$, e) $p < 0.01$, f) $p < 0.001$.

TABLE II. Effects of DL-3-Pyridylalanine (3-PA) and 5-Hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) on Various Tissue Serotonin (5-HT) Contents in Rats, Alone and in Combinations

Group	Dose (mg/kg)	5-HT μ g/g tissue wet wt.				
		Liver	Kidney	Spleen	Small intestine	Serum
Control	0.9% NaCl	0.628 $\pm$ 0.020	0.329 $\pm$ 0.014	3.46 $\pm$ 0.14	6.60 $\pm$ 0.33	0.461 $\pm$ 0.037
3-PA	100	0.648 $\pm$ 0.018	0.357 $\pm$ 0.008	3.24 $\pm$ 0.10	6.66 $\pm$ 0.17	0.592 ^{a)} $\pm$ 0.028
	2.5	0.722 ^{a)} $\pm$ 0.023	0.400 ^{b)} $\pm$ 0.011	4.55 ^{a)} $\pm$ 0.42	6.46 $\pm$ 0.41	0.641 ^{c)} $\pm$ 0.031
5-HTP	5	0.745 ^{b)} $\pm$ 0.016	0.395 ^{b)} $\pm$ 0.011	4.93 ^{c)} $\pm$ 0.20	6.84 $\pm$ 0.27	0.753 ^{c)} $\pm$ 0.030
	10	0.825 ^{c)} $\pm$ 0.013	0.442 ^{b)} $\pm$ 0.032	5.75 ^{c)} $\pm$ 0.17	7.18 $\pm$ 0.18	0.803 ^{c)} $\pm$ 0.016
5-HTP+	2.5	0.735 ^{b)} $\pm$ 0.017	0.392 ^{b)} $\pm$ 0.013	4.63 ^{b)} $\pm$ 0.27	6.80 $\pm$ 0.19	0.770 ^{c)} $\pm$ 0.021
3-PA (100mg/kg)	5	0.769 ^{c)} $\pm$ 0.018	0.361 $\pm$ 0.011	4.85 ^{b)} $\pm$ 0.35	6.75 $\pm$ 0.14	0.856 ^{d)} $\pm$ 0.034
	10	0.836 ^{c)} $\pm$ 0.022	0.398 ^{a)} $\pm$ 0.024	5.46 ^{c)} $\pm$ 0.16	7.16 $\pm$ 0.33	0.947 ^{f)} $\pm$ 0.020

The administration schedule of 5-HTP and 3-PA was identical to that described in the legend to Fig. 1.

Values represent the means $\pm$ S.E. for 6 animals per group.

Significance of difference from control: a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$, c) $p < 0.001$.

Significance of difference from corresponding 5-HTP group: d) $p < 0.05$, e) $p < 0.01$, f) $p < 0.001$

Fig. 2. Time-course of the Effects of DL-3-Pyridylalanine (3-PA) and 5-Hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) on Brain Serotonin (5-HT) Contents in Rats, Alone and in Combinations

3-PA (100 mg/kg) was subcutaneously injected to rats at 24 h before death. 5-HTP (5 mg/kg) was subcutaneously administered at zero time. Brain 5-HT contents were determined as described in Methods section.

●—●: 3-PA+5-HTP, ○—○: 3-PA, ■—■: 5-HTP.

Significance of difference from control ($0.425 \pm 0.010 \mu\text{g/g wet wt.}$): a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$, c) $p < 0.001$.

Significance of difference from corresponding 5-HTP group: d) $p < 0.01$, e) $p < 0.001$.

末梢臓器 (肝, 腎, 脾) の 5-HT 含量についても, 脳の場合と同様に 3-PA 前処理ラット (100 mg/kg) に 5-HTP 5 mg/kg を投与後, 経時的に検討し, その結果を Table III に示した. 5-HTP 投与により, 各臓器共 5-HT 含量が増加したが, 投与 24 時間後にはいずれも対照レベルにまで低下した. 3-PA 併用による末梢臓器 5-HT 量への影響は見られず, 5-HTP 単独投与時とほとんど差がなかった (Table III).

以上の結果, 5-HTP と 3-PA の併用投与は, 脳 5-HT 量の増加とその持続に関し, それぞれの単独投与に比べほぼ相加的な効果を挙げることが明らかになった. 末梢組織に対する 5-HT の影響を考慮した場合, 5-HTP の投与量軽減化が望まれる反面, 抗うつ剤としての効果を期待するには, 脳 5-HT 量はある程度高いレベルを保持する必要があるであろう. 3-PA との併用は, こうした相反する要求に応え得る可能性を示している.

脳および肝の Trp-5-HT 系代謝酵素におよぼす 5-HTP および 3-PA の併用投与の影響

先に著者らは, 3-PA が Trp 代謝において中心的役割を果たす肝 TP の活性を低下させ, 逆に 5-HTP は本酵素活性の上昇をもたらすこと, さらに, 5-HTP (50 mg/kg) 投与によって脳 Trp-5-hydroxylase と 5-HTP decarboxylase の活性が低下し, 3-

TABLE III. Time-course of the Effects of DL-3-Pyridylalanine (3-PA) and 5-Hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) on Various Tissue Serotonin (5-HT) Contents in Rats, Alone and in Combinations

Group	Time (h)	5-HT $\mu\text{g/g tissue wet wt.}$		
		Liver	Kidney	Spleen
Control (0.9% NaCl)	2	0.539 ± 0.030	0.343 ± 0.007	3.81 ± 0.12
5-HTP (5 mg/kg)	2	0.790 ^{b)} ± 0.058	0.456 ^{c)} ± 0.011	5.04 ^{b)} ± 0.35
	4	0.775 ^{b)} ± 0.063	0.409 ^{c)} ± 0.008	5.51 ^{b)} ± 0.42
	6	0.651 ^{a)} ± 0.019	0.374 ^{a)} ± 0.009	5.06 ^{b)} ± 0.25
	24	0.577 ± 0.043	0.339 ± 0.007	4.39 ± 0.35
5-HTP (5 mg/kg) +	2	0.782 ^{c)} ± 0.041	0.446 ^{c)} ± 0.018	5.03 ^{b)} ± 0.30
	4	0.748 ^{c)} ± 0.031	0.398 ^{c)} ± 0.008	4.95 ^{b)} ± 0.30
3-PA (100 mg/kg)	6	0.688 ^{a)} ± 0.052	0.362 ± 0.009	4.64 ^{a)} ± 0.33
	24	0.551 ± 0.035	0.338 ± 0.010	4.16 ± 0.27

The administration schedule of 5-HTP and 3-PA was identical to that described in the legend to Fig. 2. Values represent the means $\pm$ S.E. for 6 animals per group.

Significance of difference from controls: a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$, c) $p < 0.001$.

Fig. 3. Effects of DL-3-Pyridylalanine (3-PA) and 5-Hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) on Brain Tryptophan 5-Hydroxylase (i) and Liver Tryptophan Pyrrolase (ii) Activities, Alone and in Combinations

The administration schedule of 3-PA (100 mg/kg) and 5-HTP (2.5, 5 or 10 mg/kg) was identical to that described in the legend to Fig. 1. Tryptophan 5-hydroxylase activity was determined in terms of the formation of 5-hydroxytryptophan from tryptophan, as described in Methods section. Tryptophan pyrrolase activity was assayed, as described in Methods section, with the addition of 2 μ M hematin.

Vertical bars represent the means $\pm$ S.E. for 6 animals per group.

Significance of difference from control: a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$.

Significance of difference from corresponding 5-HTP group: d) $p < 0.05$, e) $p < 0.01$.

PA 投与ではこれらの酵素活性に何の変化も起きないこと等を報告した.¹⁾ そこで、前述のごとき両化合物の併用投与が、5-HT 代謝に関係深いこれらの酵素に如何なる活性変化を惹起するか検討した。

i) 5-HTP 投与量の影響 組織 5-HT 定量時と同様に、3-PA (100 mg/kg) は屠殺 24 時間前に、5-HTP (2.5, 5, 10 mg/kg) は屠殺 4 時間前にそれぞれ単独または併用投与した。

Fig. 3-i) に示したように、脳 Trp-5-hydroxylase 活性は、5-HTP の投与量が増すにつれて低下する傾向が見られた。併用群のうち、最も大きな脳 5-HT の増量がおきる 5-HTP 10 mg/kg・3-PA 群 (Fig. 1) では、本酵素活性の有意な低下が認められた。一方、脳および肝の 5-HTP decarboxylase と MAO 活性には、薬物投与群と対照群との間に差が見られなかった。

肝 TP 活性 (Fig. 3-ii) は、5-HTP 10 mg/kg 投与により有意に上昇 (対照群の 33% 増) したが、3-PA 100 mg/kg の併用によって完全に阻止され、対照レベルの活性となった。5-HTP 2.5 および 5 mg/kg 投与時には、肝 TP 活性の上昇はほとんど無く、3-PA を併用した場合、肝 TP 活性は 3-PA 単独投与時と同程度の低値を示した。

ii) 5-HTP 投与後の経時的影響 3-PA (100 mg/kg) 処理ラットに 5-HTP 5 mg/kg を投与後、諸酵素活性を経時的に測定し、その結果を Fig. 4 に示した。

併用群の脳 Trp-5-hydroxylase 活性は、各測定時共 5-HTP 単独投与群のそれよりも低く、特に脳 5-HT 含量が最大値を示す併用 2 時間後 (Fig. 2 参照) には、対照群酵素活性に比べ有意な低下が見られた。しかし、脳 5-HT 量が幾分減少する投与 4 時間後には、対照群酵素活性に比べ依然低値を示すものの、有意な差はなかった (Fig. 4-i)。

Fig. 4. Time-course of the Effects of DL-3-Pyridylalanine (3-PA) and 5-Hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) on Brain Tryptophan 5-Hydroxylase (i) and Liver Tryptophan Pyrrolase (ii) Activities, Alone and in Combinations

The administration schedule of 5-HTP and 3-PA was identical to that described in the legend to Fig. 2. Brain tryptophan 5-hydroxylase and liver tryptophan pyrrolase activities were determined as described in Methods section.

Points represent the means $\pm$ S.E. for 6 animals per group.

▲—▲: 5-HTP (5 mg/kg), ●—●: 5-HTP (5 mg/kg) + 3-PA (100 mg/kg).

Significance of difference from control: a) $p < 0.05$, b) $p < 0.01$.

Significance of difference from corresponding 5-HTP group: d) $p < 0.01$, e) $p < 0.001$.

Fig. 5. Effects of DL-3-Pyridylalanine (3-PA) and 5-Hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) on Conditioned Avoidance Response in Reserpine-treated Rats, Alone and in Combinations

Rats received a subcutaneous injection of reserpine (0.5 mg/kg) at 15 min before the administration of 5-HTP and 3-PA (subcutaneously).

Points represent the means $\pm$ S.E.

○—○: reserpine, 6 rats,

▲—▲: reserpine + 3-PA 50 mg/kg, 4 rats,

△—△: reserpine + 3-PA 100 mg/kg, 4 rats,

■—■: reserpine + 5-HTP, 5 mg/kg, 4 rats,

□—□: reserpine + 5-HTP 50 mg/kg, 4 rats,

●—●: reserpine + 3-PA 50 mg/kg + 5-HTP 5 mg/kg, 4 rats.

脳および肝の 5-HTP decarboxylase と MAO 活性は、対照群の両酵素活性と差がなかった。

肝 TP は、5-HTP 投与 2 時間後対照群に比べ有意な活性上昇が見られたが、以後速やかに低下し、4 時間後には対照レベルに戻った (Fig. 4-ii)。この 5-HTP 投与による TP 活性の上昇は、3-PA の併用によって抑えられ、各測定時共 3-PA 単独投与レベル (5.42 kynurenine μ mol/g wet wt./h) の低い活性を示した。

以上の結果、脳 Trp-5-hydroxylase 活性は、脳 5-HT 量の変化によって大きく影響されることが再確認された。Fig. 1 および 2 の結果から見て、脳 5-HT 量の増加が少なくとも対照群の 1.3 倍以上に達した時、本酵素活性の抑制が起きるのではないかと考えられる。5-HTP による肝 TP 活性の上昇作用は、今回用いた程度の投与量では併用した 3-PA によって阻止され、3-PA による脳 5-HT 増加作用によってそれ程障害にはならないことが判明した。このことは、脳 5-HT の定量結果 (Fig. 1, 2) から支持される。

5-HTP 10 mg/kg + 3-PA 併用群の肝 TP 活性が 3-PA 単独投与群よりも高かったこと (Fig. 3)、3-PA による肝 TP 活性の阻害能は、3-PA の投与量を 100 mg/kg 以上に増やしても飛躍的な効果を期待出来ないこと、¹⁾ 5-HTP の肝 TP 活性の上昇作用は、投与量を増すとかな

り強くなること (50 mg/kg, 2時間: 対照群 TP 活性の 1.7 倍¹⁾), 大巾な脳 5-HT 量の増加は, 脳 Trp-5-hydroxylase 活性の大きな低下を招くこと, そして 5-HTP 2.5 mg/kg では, 十分な脳 5-HT 量の増加が起きないこと (Fig. 1) などを考えあわせると, 本実験で用いたように 5—10 mg/kg 程度の 5-HTP 使用時に最も良好な併用効果をあげ得るものと思われる。

レセルピンによる条件回避反応抑制効果におよぼす 5-HTP および 3-PA の影響

条件回避反応は, トランキライザーによる静穏作用の効果検定の指標として使用されているが, ラットをレセルピンで処理した場合, 本反応は抑制的な変化をみせる。¹⁴⁾ また, レセルピンは, 脳内アミン含量を減少させることも良く知られている。¹⁵⁾ こうした点を考慮し, shuttle box を用いて条件回避反応を学習させたラットにレセルピン (0.5 mg/kg, 皮下注射) を投与後, 脳 5-HT の増加作用を有する 5-HTP および 3-PA を単独または併用投与 (皮下注) し, レセルピンの条件回避反応抑制効果におよぼす両化合物の影響について検討を加えた。

Fig. 5 に示したように, レセルピン処理によって条件回避反応は明らかに抑制され, 6 時間後にそのピークが見られた。脳 5-HT 量の有意な増加をもたらす 3-PA 100 mg/kg および 5-HTP 50 mg/kg をそれぞれ単独投与した場合, レセルピンによる抑制効果が最も強い 6 時間後には本薬物の効果が多少残っていたが, 他の測定時にはほぼ消失した。次に, 投与量を減らし, 脳 5-HT 量の増加能が弱い 3-PA 50 mg/kg または 5-HTP 5 mg/kg を使用した場合, レセルピンによる抑制効果は, ほとんど失われなかった。ところが, 両化合物を併用すると, 投与 6 時間ではレセルピンの作用が幾分残存していたものの, 全体的にはほぼ消失した。すなわち, それぞれの単独投与と比べ, 併用投与の方が条件回避反応において強い抗レセルピン作用を示しており, 併用投与の有効性が明らかとなった。

総 括

1) 5-HTP の連続投与は, ラット脳 5-HT 量の高レベル維持には結び付かず, かえって末梢組織 5-HT 量を蓄積させる傾向を示した。

2) 比較的低用量 (5—10 mg/kg) の 5-HTP と 3-PA の併用投与は, それぞれの単独投与と比べ, ほぼ相加的な脳 5-HT 量の増加をもたらした。一方, 末梢組織 5-HT 量は, 5-HTP 単独投与レベルに止まった。

3) 両化合物併用の有効性を示す脳 5-HT 量の変化は, 脳および肝における Trp-5-HT 系代謝酵素の活性測定の結果からも支持された。

4) 併用の有効性は, 条件回避反応を用いた実験結果からも示唆された。

5) 以上の結果, 両化合物を併用することによって脳 5-HT 量の増加度を損なうことなく 5-HTP の使用量を減らすことが出来, 高用量の 5-HTP 使用による毒性発現の危険性を少なくし得る可能性が開かれた。

謝辞 条件回避反応実験に際し, 御助言を賜りました本学薬学部薬理学教室, 神谷大雄教授ならびに小野信文講師に深謝致します。

引用文献および注

- 1) H. Shimeno, Y. Fukumoto, A. Toda, A. Nagamatsu, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 2940 (1981).
- 2) a) 佐野 勇, 精神誌, **73**, 809 (1971); b) 高橋志雄, 熊代 永, 本多幸作, 金子元久, 星野仁彦, 沼田吉彦, 大塚健正, 青野哲彦, 渡辺吉彦, 丸子一夫, 脳研誌, **2**, 72 (1976); c) 金子元久, 新国 茂, 熊代 永, 臨床精神医学, **8**, 931 (1979).
- 3) 高木博司, 瀬川富朗, “生体アミン,” 山崎英正, 吉田 博編, 医歯薬出版, 東京, 1975, p. 213.
- 4) C. Niemann, P.N. Lewis, J.T. Hays, *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 1678 (1942).
- 5) J. Barchas, F. Erdelyi, P. Angwin, *Anal. Biochem.*, **50**, 1 (1972).
- 6) P.A. Friedman, A.H. Kappelman, S. Kaufman, *J. Biol. Chem.*, **247**, 4165 (1972).
- 7) W. Lovenberg, “Methods in Enzymology,” Vol. 17 (B), ed. by H. Tabor, C.W. Tabor, Academic Press, Inc., New York, 1971, p. 652.
- 8) N. Karki, R. Kuntzman, B.B. Brodie, *J. Neurochem.*, **9**, 53 (1962).
- 9) H. Kewitz, H. Wagner, *Arzneim.-Forsch.*, **15**, 1 (1965).

- 10) 高田亮介, 福岡医誌, **56**, 917 (1965).
- 11) T. Komai, K. Kawai, T. Maeda, H. Shindo, *J. Pharm. Dyn.*, **2**, 219 (1979).
- 12) L. Csötörtök, E. Beregi, *Arch. Intl. Pharmacodyn.*, **148**, 419 (1964).
- 13) 海野幸浩, 金子元久, 熊代 永, 沼田吉彦, 本多幸作, 高橋志雄, 星野仁彦, 鈴木武彦, 医学と生物学, **94**, 35 (1977).
- 14) 田村豊幸, “薬理学実験法,” 協同医書出版, 東京, 1972, p. 69.
- 15) S.M. Hess, P. Shore, B.B. Brodie, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, **118**, 84 (1956).