

Title	ラット脳内Tyrosine Hydroxylaseに関する研究(第2報) : 寒冷ストレス負荷時のTyrosine Hydroxylase活性の変動
Sub Title	Tyrosine hydroxylase activity in rat brain [II] : the enzyme activity in rat exposed to cold stress
Author	広島, 民子(Hiroshima, Tamiko)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1978
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.23 (1978. ) ,p.11- 18
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原報
Genre	Technical Report
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000023-0011">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000023-0011</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

ラット脳内 Tyrosine Hydroxylase に関する研究 (第2報) :  
寒冷ストレス負荷時の Tyrosine Hydroxylase 活性の変動\*

広島民子

Tyrosine Hydroxylase Activity in Rat Brain [II]:  
The Enzyme Activity in Rat exposed to Cold Stress

TAMIKO HIROSHIMA

(Received September 28, 1978)

In the present investigation, I observed the effects of the cold stress (4°C) on tyrosine hydroxylase (TH) activity as well as on the concentration of cyclic AMP (cAMP) and cyclic GMP (cGMP) in seven regions of rat brain, comparing with adrenal gland.

The rats were killed immediately after exposure to the cold stress for 0, 0.5, 1 and 2 hr, respectively. The another 3 groups of rats were returned to the room temperature (23°C) soon after 2 hrs cold stress and killed at 16, 22 or 46 hrs after the termination of the stress (abr. 18, 24 or 48 hr groups, respectively).

The activity of TH in striatum, where the enzyme activity was highest than the another brain regions in the control group, decreased gradually between 2 and 18 hr and restored to the 0 hr's level at 24 hr. In hypothalamus and midbrain, TH activity increased at 0.5 hr, afterwards decreased gradually until 18 hr, and then, the activity in all of these three regions increased slightly at 48 hr. Whereas, the concentration of cAMP and cGMP or ratio of cAMP and cGMP in these brain regions showed no significant difference from control by cold exposure. The pattern of the fluctuation of TH activity and cAMP/cGMP concentrations ratio in adrenal medulla by cold stress agreed with the reports of Costa et al. (1973, 1974). On the contrary, the cAMP or cGMP showed no significant change in brain at the time observed after cold stress, though the TH activity increased slightly in hypothalamus and midbrain by the cold exposure at 24 hrs — 48 hrs.

前報<sup>1)</sup>においてラット脳内 tyrosine hydroxylase (THと略す) と性周期との関係について報告した。

生体はストレスをうけたとき、間脳—下垂体—副腎系を始めとする防衛反応にかかわる機能的変化を起こし、homeostasis を維持しようとする。一方、視床下部は homeostasis 維持に重要な役割を持っており、catecholamine (特にnorepinephrine) が極めて高濃度に存在している。従って本アミンの生合成に関係するTHとストレスの間には何らかの関連性があると考えられる。

\* 本論文の一部要旨は第57回日本薬理学会関東部会(1977年10月)において発表

1) 吉原, 中村, 木村, 小野: 共薬年報, 22, 70 (1977)



Fig. 1 に示す手順により行い、基質として用いた  $1-^{14}\text{C}$ -tyrosine から生成される  $^{14}\text{CO}_2$  量から tyrosine 消費量 n moles/hr/mg protein で酵素活性を表わした。なお、蛋白量は bovine albumine (第1化学製) を標準として Foline phenol 試薬を用い、Lowry ら<sup>4)</sup>の方法に準じて測定した。

#### cAMP および cGMP の測定法

寒冷ストレス負荷 0.5, 1, 2, 24hr 群および正常無処置群について午前9~11時に microwave (日立製, 1,300 w) を頭部に3.5秒照射し、直ちに摘出した副腎には更に直接0.2秒 microwave を照射した。脳および副腎を TH活性測定の場合と同様に分離した。脳は6%トリクロル酢酸の10容量, 副腎皮質は50容量, 副腎髄質は100容量でhomogenizeし、Fig. 2 に示す手順によって cAMP, cGMP を抽出し、radioimmunoassay (Yamasa assay kit を使用) にて測定した。cAMP, cGMP の含有量は放射能より結合率を計算し標準曲線から試料中の濃度を求め、cAMP, cGMP p moles/mg protein で表わした。

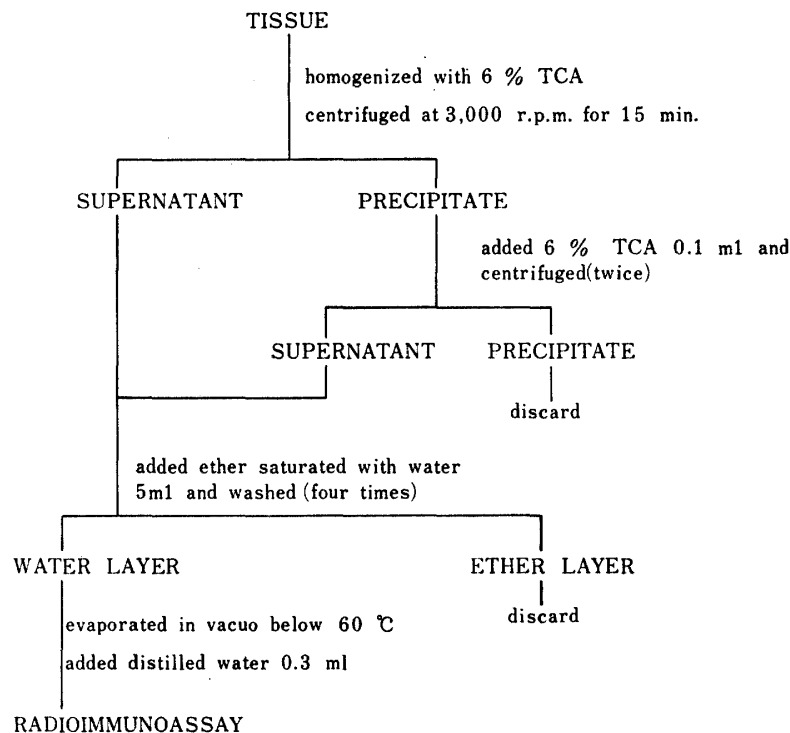


Fig. 2 Extraction of cyclic AMP and cyclic GMP from tissue

### 実験成績

#### TH活性

脳内TH活性は striatum で最も高く約10 n moles/hr/mg protein であった。次いで hypothalamus に高く striatum の約 $\frac{1}{4}$ , midbrain では striatum の $\frac{1}{10}$ 以下の活性を示した。その他の部位, hippocampus, cortex, medulla oblongata, cerebellum では更に低く, 0~0.5 n moles/hr/mg protein であった (Fig. 3)。副腎髄質中のTH活性は45 n moles/hr/glandで

4) Lowry, O.H. et al. : *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)

あったが、副腎皮質中のTH活性は非常に低く5 n moles/hr/gland 以下であった (Fig. 4)。

寒冷ストレスにより脳内TH活性は striatum では2 hr でやや減少の傾向を、18hr で更に減少を示し、24hr ではほぼ正常無処置群の値に、48hr では正常無処置群の値よりむしろ高い値となったが、いずれも有意の変動は認められなかった。Hypothalamus と midbrain におけるTH活性は0.5hr でやや増加し、2 hr で正常レベルに、18hr で正常レベル以下に減少したが、その後再び増加して24hr で正常に戻り、48hr では0.5hr とほぼ等しい値にまで増加した。他の部位では酵素活性が非常に低く、また寒冷ストレス負荷による変動幅もほとんど認められなかった (Fig. 3)。

副腎髄質のTH活性は寒冷ストレスにより0.5および1 hr で低下を示し、2 hr でやや回復、18, 24hr と上昇して24hr の値は正常無処置群の16%増となったが、48hr には正常無処置群レベルにほぼ等しい値となった。副腎皮質のTH活性は非常に低く、また寒冷ストレス負荷による変動も非常に少なかった (Fig. 4)。

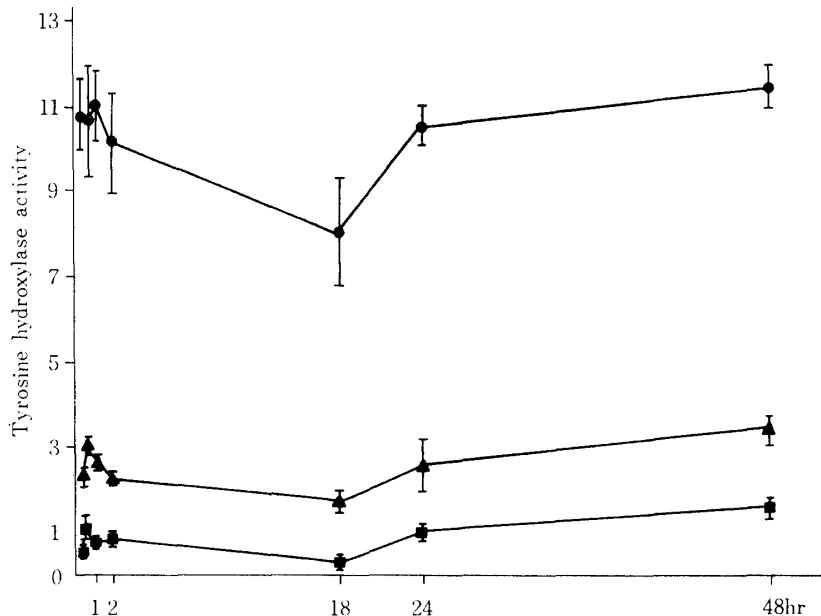


Fig. 3 Tyrosine hydroxylase activity in rat brain during and after cold stress

Tyrosine hydroxylase activity was expressed with consumed tyrosine n moles /hr/mg protein. Each point (●; striatum, ▲; hypothalamus, ■; midbrain) represents the mean  $\pm$  S.E. of data from three or four rats.

#### cAMP および cGMP

脳内 cAMP 含量は cerebellum で最も高く、striatum で最も低値を示した (Fig. 5) が、脳内 cGMP 含量は7つのどの部位においても非常に少く、また部位による差もほとんど認められなかった (Fig. 6)。副腎の cAMP 含量は髄質、皮質ともほぼ同程度であるが、cGMP 含量は cAMP に比べて、特に皮質において非常に少なかった (Fig. 7, 8)。

寒冷ストレスによって脳内 cAMP および cGMP 含量はいずれの部位においても多少の変動はあるが、有意の差は認められず、寒冷ストレスによる影響はほとんどないと考えられる (Fig. 5, 6)。

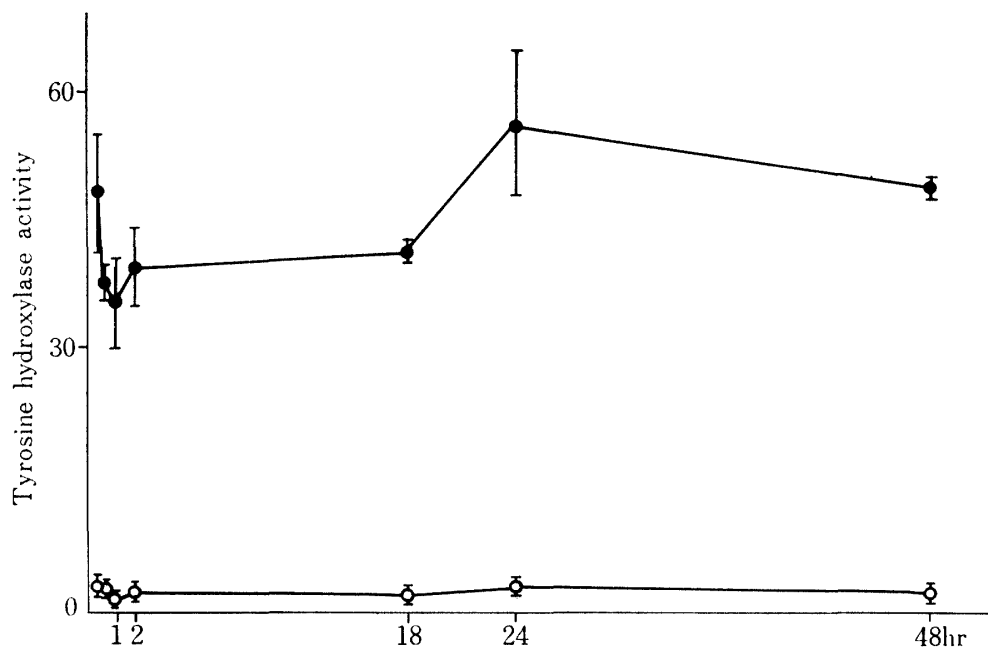


Fig. 4 Tyrosine hydroxylase activity in rat adrenal gland during and after cold stress

Tyrosine hydroxylase activity was expressed with consumed tyrosine n moles/hr/gland. Each point (●; adrenal medulla, ○; adrenal cortex) represents the mean  $\pm$  S.E. of data from four or more rats.

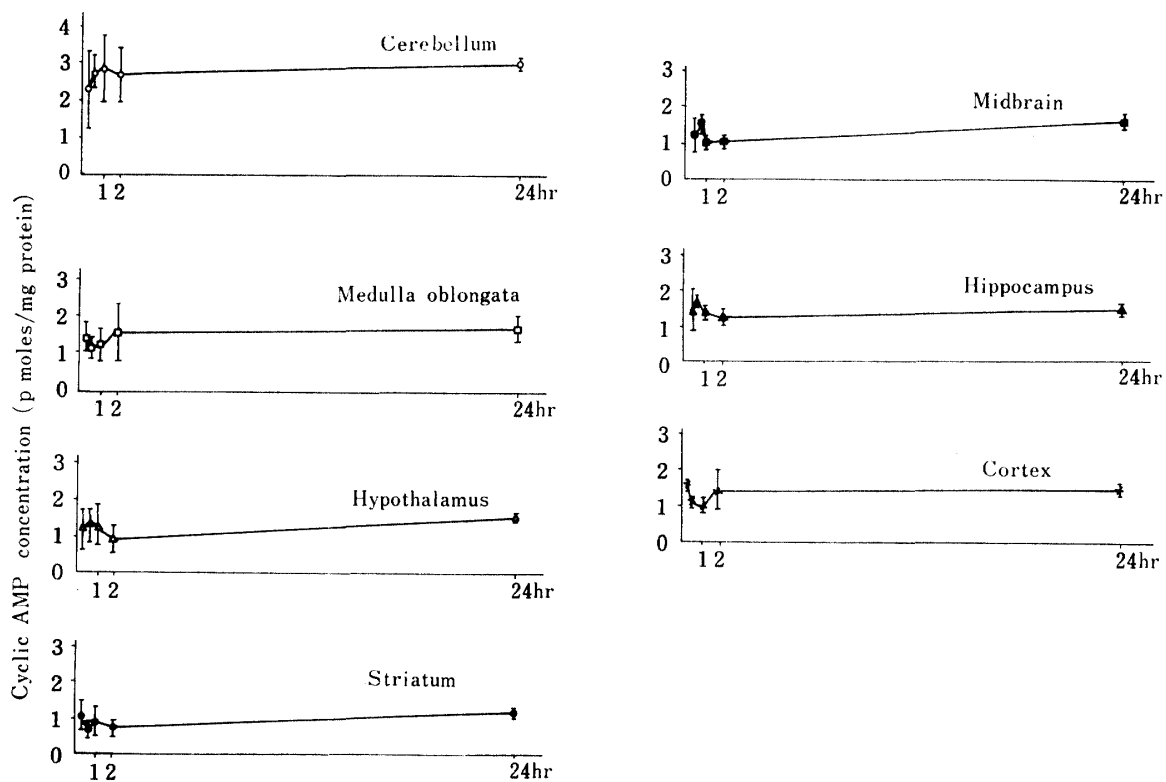


Fig. 5 Cyclic AMP concentration in rat brain during and after cold stress

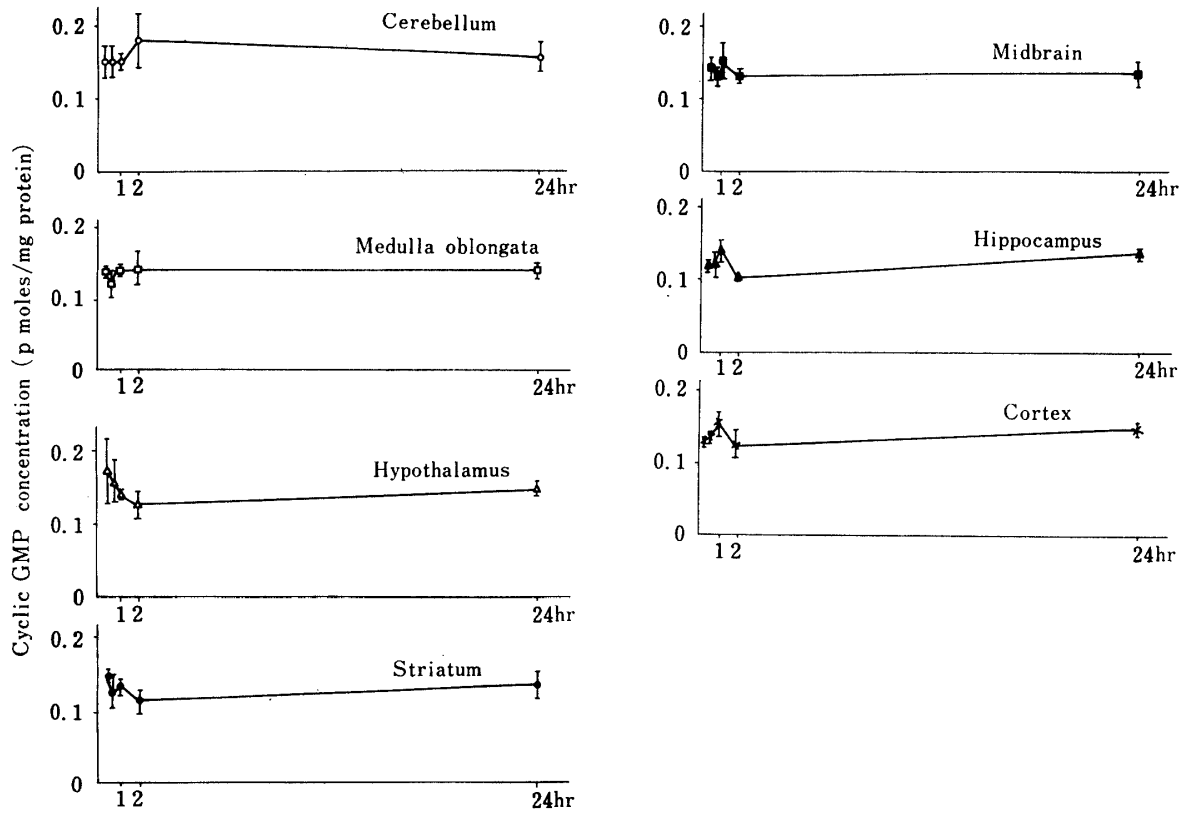


Fig. 6 Cyclic GMP concentration in rat brain during and after cold stress

副腎髄質では寒冷ストレスによってc AMP含量は2 hrで、c GMP含量は0.5~2 hrまでやや減少したが、24hrではc AMP、c GMPともに正常レベルに回復した。c AMP/c GMP比は1 hr値が最も高く正常無処置群の約2倍に上昇し、2 hr値は0.5hr値、24hr値は正常群の値に回復した (Fig.7)。副腎皮質のc AMPは寒冷ストレス負荷0.5hrで正常無処置群の2倍以上に増加し、その後2 hrまでは急激に、24hrまでは徐々に減少して、24hrでの値は正常レベルに等しかった。副腎皮質のc GMPはストレスによりほとんど変動を示さないで、c AMP/c GMP比はc AMPの変動と同様の動きを示した (Fig.8)。

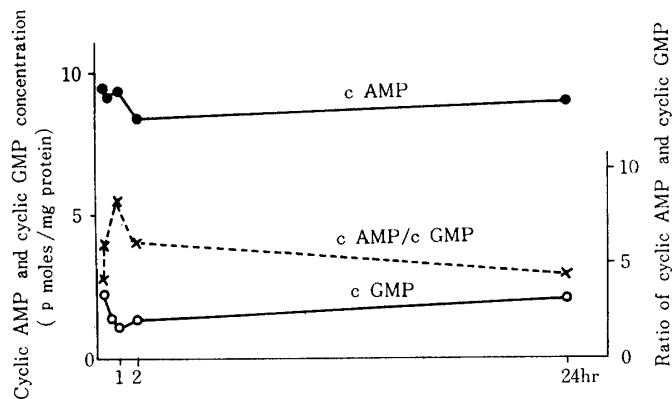


Fig. 7 Cyclic AMP, cyclic GMP concentration and ratio of cyclic AMP and cyclic GMP in rat adrenal medulla

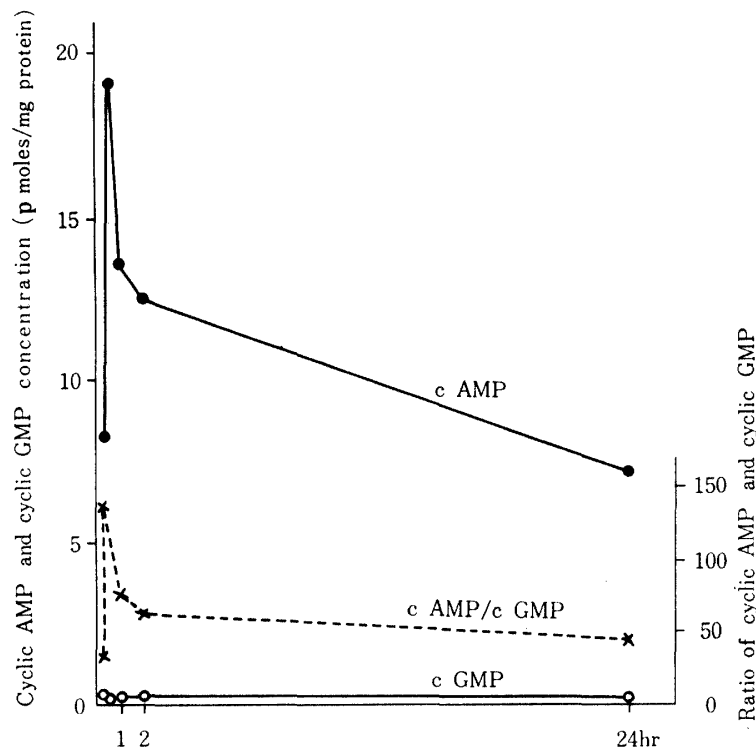


Fig. 8 Cyclic AMP, cyclic GMP concentration and ratio of cyclic AMP and cyclic GMP in rat adrenal cortex

### 総 括

寒冷ストレスによりTH活性は脳内では酵素活性の高い部位 striatum において 2 hr, 18hr に減少し, 24hr には回復した。Hypothalamus, midbrain におけるTH活性は 0.5hr で上昇し, 2 hr, 18hr でやや減少したが, その後再び増加して24hr でほぼ正常レベルに戻り, 48hr では0.5 hr とほぼ等しい値にまで増加した。脳内 c AMP, c GMP の寒冷ストレスによる変動には7部位とも有意の増加あるいは減少を認めなかった。一方, 副腎では寒冷曝露によって髄質中のTH活性は0.5hr で減少し, 2 hr より増加して24hr では正常無処置群より16%増加し, 48hr で正常レベルに回復した。副腎髄質中の c AMP と c GMP の比は寒冷曝露 0.5hr と 1 hr において増加し, 2 hr 群より減少して24hr 群は正常に回復した。

Costa ら<sup>5)</sup> はラットを 4°C に曝露したとき, 副腎髄質において c AMP と c GMP の濃度比が 1 時間で急激に増加し, このことによって 2 時間の寒冷曝露解除後 10~22 時間で TH 活性が誘導されると報告している。また, Guidotti ら<sup>6)</sup> は 2 時間の寒冷ストレスはストレス解除 24~48 時間後に副腎中の TH 活性を増加すると報告している。今回の実験においても副腎ではこれらの報告と同様の結果を得た。Mueller ら<sup>7)</sup> によると, 中枢においても norepinephrine neurone で

5) Costa, E. et al. : *Neuropsychopharmacology of Monoamines and Their Regulatory Enzymes*, p. 161 (1974)

6) Guidotti, A. et al. : *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 278, 195 (1973)

7) Mueller, R. A. et al. : *Mol. Pharmacol.*, 5, 463 (1969)



No.23 (1978)

寒冷ストレスによって T H 活性の誘導が起きやすいという。本実験でも striatum より hypothalamus, midbrain において48hr群でT H活性の増加がみられたが, c AMP, c GMP 含量あるいはc AMP / c GMP比には副腎にみられるような顕著な変化は認められず, これらとT H活性の寒冷ストレスによる関連は認められなかった。

長時間寒冷に曝すことにより,内臓神経からの acetylcholineの遊離が増加し, 副腎クロマフィン細胞中のT H活性を誘導するという報告<sup>8)</sup>もあり, T H活性の変動には cyclic nucleotides ばかりでなく, これらと深い関係のある acetylcholine についても実験を重ねる必要がある。

また, 副腎皮質中のT H活性およびc GMP 含量は非常に低く, ストレスによる変動も少ないが, c AMP 含量は寒冷曝露0.5hr群で正常無処置群の2倍以上に増加した。これはGuidotti ら<sup>9)</sup>が報告しているように脳下垂体からのA C T H遊離によるのか否かは更に検討が必要である。

本実験に際し, 終始御助言を頂きました本薬理学教室中村悦郎教授, 木村都講師に感謝いたします。

---

8) Ismail, H.U. et al. : *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 204, 676 (1978)

9) Guidotti, A. et al. : *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 189, 665 (1974)