

V. B₁ 誘導体, 特に TTFD の神経因性膀胱に 対する効果に関する生化学的一考察

東北大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 穴戸仙太郎教授)

今 林 健 一

BIOCHEMICAL ANALYSIS OF THE EFFECT OF ACTIVE VITAMIN B₁, TTFD, ON THE NEUROGENIC BLADDER

Ken-ichi IMABAYASHI

From the Department of Urology, Tohoku University School of Medicine

(Director : Prof. S. Shishito)

TTFD, thiamin tetrahydro-furfuryl disulfide, one of the long-acting active vitamin B₁, shows a quite characteristic biological action which is called as "Alinamin Effect". This "Alinamin Effect", which may not be developed by thiamin itself, has widely spreaded sites of its action not only pharmacological but also biochemical. Here, some analysis were made with biochemical viewpoint on the effect of TTFD on neurogenic bladder.

It was found that TTFD has some controlling action on the dehydrogenase systems corresponding the TCA-cycle, and it may develop well accommodated activities of tissue metabolism. Therefore the effect of TTFD on the mitochondrial respiration, concerning the oxidative phosphorylation as well as the electron transportation, was observed.

Since the increase of mitochondrial respiration after TTFD supplementation which might not be found after thiamin, could not be prevented by the foregoing addition of p-CMB, the sulfhydryl radical of TTFD would not be regarded as an important reaction center for mitochondrial respiration as well as for hydrogen transportation in dehydrogenase reaction.

Physico-chemically, TTFD would play a role of proton acceptor in its molecular construction, while it would become as a high energy phosphate acceptor such as ADP in oxidative phosphorylation, and affect the mitochondrial respiration as well as the tissue metabolism. However, these assumptions have no experimental background yet. After all, TTFD would change some physical properties of neurogenic vesical wall rather normal through its action on the tissue metabolism, and make the function well cooperated.

は じ め に

1953年に Thiamin allyldisulfide が発見されて以来, 各種の Disulfide type の Thiamin 誘導体が活性 Vitamin B₁ として開発されて来た。当時活性 Vitamin とは腸管からの吸収率が高く血中濃度を急速に高め, 且つ生体内物質により不活化されることなく長時間高い血中

濃度を保ち得る性質と, 血中から組織への移行率が高く組織内で直ちに生体反応に利用し得る形に変化出来る性質との2つの性質を満足させる様な構造を有する Vitamin と定義されていた。そこで活性 Vitamin B₁ の場合もその大部分は Thiamin 構造の SH 基に種々の側鎖をつけることによりこれ等の条件を満足させる様にしたものであり, 特にその活性率は Vita-

表1 いわゆる“アリナミン効果”の特性

薬理学的作用	小腸運動の亢進	アトロピン，麻酔剤で抑制されない
	尿管運動の亢進	“なれ現象”が起らない
	心筋の異常興奮を抑制	他剤と異なる独自の効果がある
	心筋の収縮張力の増大	(V. B ₁ 誘導体，SH 化合物補酵素など)
	心血流量の増加	酸素消費の増加が少ない
	物質代謝の改善(糖質，脂質，電解質)	ミトコンドリアに多量に入る
生化学的作用	呼吸酵素系の活性化	エネルギー転換系に作用する
	エネルギー代謝の改善	電子伝達系に作用する

min B₁ の必須条件と考えられていた組織移行後の Thiamin 乃至は Thiamin pyrophosphate の生成率について重点的に吟味されていた。TPD (Thiamin propionyl disulfide) および TTFD (Thiamin tetrahydro-furfuryl disulfide) も，その例外ではなかったが，これ等2種の化合物の生体に対する作用が詳細に検討されるにつれて，期待された活性 Vitamin B₁ 作用以外に種々の特異的な作用を有することが次第に明らかになり，これ等を総称していわゆる“アリナミン効果”と呼ぶ様になった。

いわゆる“アリナミン効果”の特性

これまでに報告されたいわゆる“アリナミン効果”の主なものを列記すると表1のようになるが，その中には典型的な薬理学的作用と思われるものから，あたかも生体作用物質のような作用に到るまで極めて広範囲な性質が含まれており，かつこれらが互いに重複しうる事がわかる。すなわち TPD ないしは TTFD が生体に作用する時には少くとも2つ以上の作用機序が重複して発現される可能性が考えられる。

一方，教室では数年来，神経因性膀胱の病態生理と，これに対する TTFD の効果について検討を重ねて来たが，この場合にも TTFD は2種の明らかに異なった作用を示すように思われる。すなわちその1つは実験的に神経因性膀胱を作成した動物の膀胱内圧測定を行なうとき，同時に TTFD の大量点滴静注を平行させると，明らかに膀胱容量が増加する¹⁾ すなわち TTFD は大量静注により膀胱壁の緊張度を低下させる作用を示すということである。勿論このような現象は或種の副交感神経節遮断剤の投与により認めることが出来るが，Thiamin 単独投与ではほとんど認めることは出来ない。従ってこれは TTFD の独自の薬理学的作用であろうと考えられる。このような TTFD のもつ副交感神経節遮断剤様の作用は腸管などにおい

ても認められているが²⁾，その作用機序に対する説明としては現在のところ TTFD が分子内転位によりその中心位のN原子が4級アミンの形をとることにより(図1)或種の薬理学的作用を示し得ると考えるのみでまだ充分な説明は得られていない。

TTFD の神経因性膀胱に対する第2の作用としては，このものを比較的大量かつ長期間投与すると高圧縮小膀胱または低圧無緊張性膀胱の何れもが膀胱容量を正常化させ，かつ過度の自律性収縮も減少して来るということである³⁾。この第2の作用の特長はこの場合の TTFD の作用は急性実験に認められるような薬理学的なものではなく，むしろ生体作用物質のような性質をもっているということである。教室ではこのような TTFD の作用機序の基礎的問題の1つとして TTFD が支配神経損傷により生じた膀胱の異常組織代謝を改善する作用のあることを証明した⁴⁾。そこで今回はこの後者の点についていささか検討を加えてみることにする。

TTFD と組織代謝

従来 TTFD の代謝系上の作用点はこのものが Thiamin pyrophosphate となって Cocarboxylase の cofactor として各種の反応に関与する以外に Lipase⁵⁾，Ribulose-transketorase⁶⁾，Transaminase⁷⁾ に対する作用が報告されていた。しかしながら前者の場合 TTFD のもつ分子構造上の特性は必ずしも必要とは思われず，TTFD の側鎖部は Thiamin 構造が反応の場に近く移動するのにより便利な性質を与えていると考えても必ずしも誤りではない。しかし後者の場合，Thiamin に比較して TTFD の効果が或程度明らかに認められているので，これらの場合には側鎖を含めた TTFD の分子そのものが有効であろうと思われる。

一方，教室では神経因性膀胱組織においては TTFD は TCA-cycle を中心とする各種の Dehydrogenase 活性に対し，総合的な調節作用を示すことを明らかに

した⁹⁾。因みに実験的神経因性膀胱組織では神経切断の種類に対応して、組織の代謝パターンは変化しているが、その変化の最も表われ易いのは前述のような Dehydrogenase 反応である。また、この組織に TTFD を添加するとその影響を最も端的に受けるのもこれらの Dehydrogenase の反応である。さらに、これらの組織の P : O 比は同一の組織の場合でも基質の種類により異り、また各種の P³²-turn over rate もそれぞれの組織により異った値を示している。これらのことは、このような組織では、神経切断の種類に対応して Dehydrogenase 系を中心として組織代謝の系統的な変化が起っていることを示している。一方、このような神経因性膀胱組織代謝に対する TTFD の作用を良くみると、同一の Dehydrogenase 反応に対しても Background となる代謝パターンが異るとその結果が異なることが特長である。この場合の TTFD の細胞内摂取率、特に Mitochondria 内への摂取率を検討したところ、KCN-Methylenblue 添加という Dehydrogenase 活性の特性を判別するような条件と、反応基質の種類を変化させることにより Mitochondria の TTFD 摂取率は異なるがこの変化の大きさは、TTFD 添加により強く影響されるような Dehydrogenase 反応に用いたと同じ基質を用いた時に特異的に極めて大きい変化を示すことがわかった⁹⁾。

これらのことより、支配神経損傷後比較的早期の膀胱組織では Dehydrogenase 反応に関する Oxidative phosphorylation を含めた電子伝達機構が何等かの意味で極めて Labile であり、TTFD を含めた或種の作用物質により容易に受動的統御を受け易い状態にあることが考えられた。そこで TTFD の作用を仲介としてこのような点をさらに詳細に追求することは、神経因性膀胱の本態を解明する上にも大きな手懸りを得ることであると考え、まづ TTFD と電子伝達系の関係を明らかにするために図 2 のような装置を使って Mitochondria 呼吸に対する TTFD の影響を観察した。

TTFD と Mitochondria 呼吸

図に示した装置は Chance らにより開発された微量の液体内容酸素量の変化を測定記録する装置で、主要部は反応室とその中に挿入されたポーログラフ用白金酸素電極である。密閉した反応室に Tris-HCl buffer pH 7.4 を入れこれに所定の Mitochondria を懸濁させ、側管より種々の反応液を添加すると恒温で溶液中に溶存する酸素が Mitochondria により消費されて行く過程が観察出来る。

まづ内海の方法⁹⁾の一部変法により Rat 肝より Mitochondria を分離し、常法により Oxidative phosphorylation を測定して(図 3) Oxidative phosphorylation index を計算した。次いでこれがほとんど Intact であることを確かめた Mitochondria に対し TTFD を添加したところ、図 4 のように明らかに酸素消費量が促進されることがわかった。

そこでこのような TTFD の作用を解析するために、まづ TTFD は Mitochondria 内では Disulfide 部分が解離して露出された SH 基がある種の Hydrogen acceptor になることを仮定した。そこで SH 基の特異的阻害剤である p-CMB を予め添加しておいた時の TTFD 添加の影響を観察したところ、この場合も予期に反して Mitochondria 呼吸促進は明らかに認められた(図 5)。さらに Thiamin 単独ではこのような Mitochondria の Endogeneous 呼吸を促進する現象はほとんど認め難い。従って TTFD のこのような作用には側鎖としての Furfuryl 基の結合が何等かの意味で重要な役割を果していることが考えられ、前に述べた仮説は一応否定された訳である。さらに予め KCN を添加したものに TTFD を添加したところ、やはり同様に Mitochondria の呼吸促進が認められたが、この場合 TTFD により亢進した酸素消費は少量の Methylenblue の添加によりむしろ抑制されるようである。しかしその後引続いて Pi および ADP を添加すると充分な Oxidative phosphorylation を行なっている(図 6)。これらの関係は現在のところ充分に説明されることが出来ないが、TTFD の示した特異的な性質として極めて興味のあるところである。

TTFD と電子伝達系

呼吸連鎖における 2 種の Nucleotide、すなわち DPN および FMN はそれぞれの酸化型と還元型の間に陽子 (Proton) 1 個を結合し得る中間体をもっていることが最近明らかにされた¹⁰⁾(図 7)。この点を考慮しつつ TTFD の分子構造をみると、側鎖を解離した後には Thiazol 核の N 原子に Proton acceptor としての可能性を見出すことが出来る(図 8)。しかしこれに関する実験的な裏付けはまだ得られておらず、かつ側鎖の意義も立証し難い。

一方、Thiamin は α -Lipoic acid および High energy phosphate と結合して Lipoic-thiamin-pyrophosphate を生成することが知られている(図 8)。さらにこのものの Lipoic acid 部分の SS 結合に関してはすでに Reed、小池らにより Pyruvate の

Oxidative-decarboxylation 機構における重要性について新しい見解が確立され¹¹⁾，また α -Ketoglutarate の代謝に関してもほとんど同様な機構の存在が推定されている。このことは TCA-cycle の回転に関する Feed-back control と考えられるこれ等の反応を共通に統御する因子として重要な意義を有し，ひいては TTFD による代謝調節作用の1つの可能性として極めて興味深いものがある。しかしこの場合の Lipoic-thiamin-pyrophosphate の作用は開裂した SS 結合に関する酸化還元反応が主体になるので，前に述べたような p-CMB 添加時にもみられた TTFD による Mitochondria 呼吸促進作用は少なくともこれ以外の機構による反応をも含んでいると云える。さらに田辺¹²⁾によれば Thiamin triphosphate の存在が推定されているので，Thiamin diphosphate ないしは Lipoic-thiamin-pyrophosphate のもう1つの作用として Oxidative phosphorylation における ADP の役割に類似した High energy phosphate acceptor として Hydrogen carrier である Nucleotide の再酸化機構に関与する可能性も或程度考えられる。

以上の事項から直ちに TTFD の側鎖である Furfuryl 基の結合およびこれを含んだ全体の分子構造の意義は明らかにすることは出来ない。しかし前述のごとく Thiamin 単独ではみられない作用が明らかに存在することからみても，この側鎖部分が分子結合をしたままであるか，あるいは解離したとしても全反応の場の極く近傍に存在して何等かの意味で反応に影響を与えていることを否定することは出来ない。この点についても将来詳細に検討する必要がある。

お わ り に

以上，神経因性膀胱組織を中心に TTFD が組織代謝におよぼす影響についてその生化学的な解析を試みたが，TTFD は極めて特異な作用があることを明らかにし得たのみで，その本態に関しては未だほとんど不明である。TTFD はこの他にも細胞膜の異常興奮を抑制または調節する作用¹³⁾，腸管¹⁴⁾または尿管¹⁵⁾の蠕動スパイクを増加させる作用，心筋に対する張力増加作用¹⁶⁾など種々の作用を有することが報告されている。これ等の薬理学的作用と共に TTFD は前述の様に組織代謝改善という生化学的な作用を有し，この両者が組織の機能的活性を向上させているという事が出来る。最近 Hinman は膀胱内圧曲線で示される膀胱機能の大部分は膀

胱壁の機能的構造特性を表現するものであり，排尿現象に関する神経要素は内圧曲線の終末部にのみ表現されるべきものであると報告している¹⁷⁾。この説の当否は別としても排尿と膀胱壁の緊張度が極めて密接な関係にあることは当然である。TTFD は多面的な作用によりこの膀胱壁の緊張度を調節することにより神経因性膀胱に対し治療効果を挙げているといえる。

文 献

- 1) 今林健一：泌尿器科領域におけるアリナミン研究会，口演（仙台）昭40.
- 2) 福原 武：アリナミン基礎研究会文献集，（宝塚）昭40.
- 3) 今林健一・他：Recent Literature on Alinamin, (Neurogenic Bladder), 1964.
- 4) 今林健一：臨床皮泌，16：1067, 1962.
- 5) 新光 毅・他：Recent Literature of Fundamental Studies on Alinamin, (Heart) No. 2. 1965.
- 6) 今林健一：アリナミン基礎研究会，口演（白浜）昭39.
- 7) 木村博行：Recent Literature of Fundamental Studies on Alinamin, (Heart) No. 2. 1965.
- 8) Imabayashi, K. Tohoku J. Exp. Med., 82：1, 1964.
- 9) Usami, K. : Acta Med. Okayama, 17：259, 1963.
- 10) White, A. et al. : (石田寿老，他訳)：生化学原理，312, 318, 昭37.
- 11) 小池正彦：アリナミン基礎研究会，講演（札幌）昭39.
- 12) 田辺恒義・他：アリナミン基礎研究会，口演（宝塚）昭39.
- 13) 秋田八年・他：Recent Literature of Fundamental Studies on Alinamin, (Heart) No. 2. 1965.
- 14) 林田健男：アリナミンの腸運動におよぼす影響，（映画）1963.
- 15) 土田正義・他：Recent Literature of Fundamental Studies on Alinamin, No. 3. 1965.
- 16) 中沢与四郎・他：ibid, No. 2. 1965.
- 17) Hinman, F., Jr. : J. Urol., 91：33, 1964.

（1966年7月14日特別掲載受付）

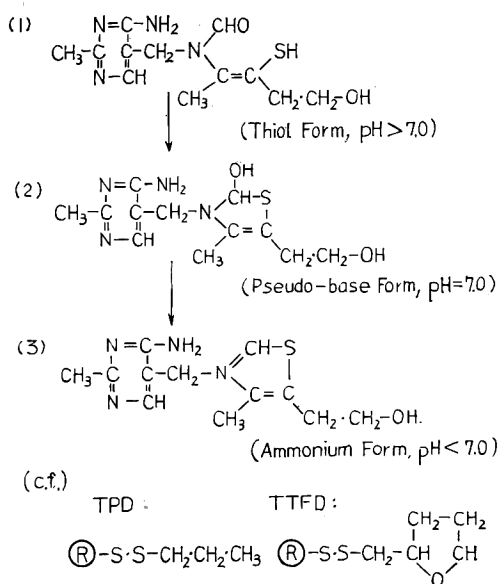


図1 Thiamin (V. B₁) の構造活性の変化

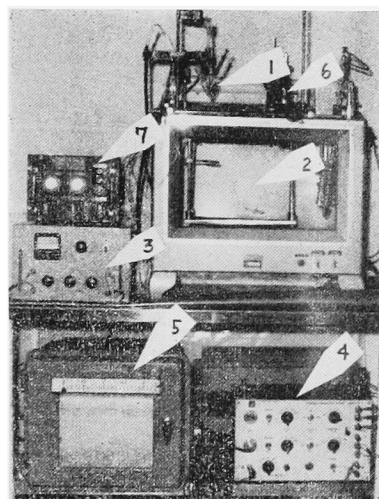


図2 Reaction & Record System

1. Reaction chamber, with pt-Ag electrode
2. Thermo-controlled water bath
3. Pick-up controller
4. DC amplifier (2ch.)
5. Chopping recorder
6. Referring electrode
7. Biological stimulator (Biphasic rectangle impuls)

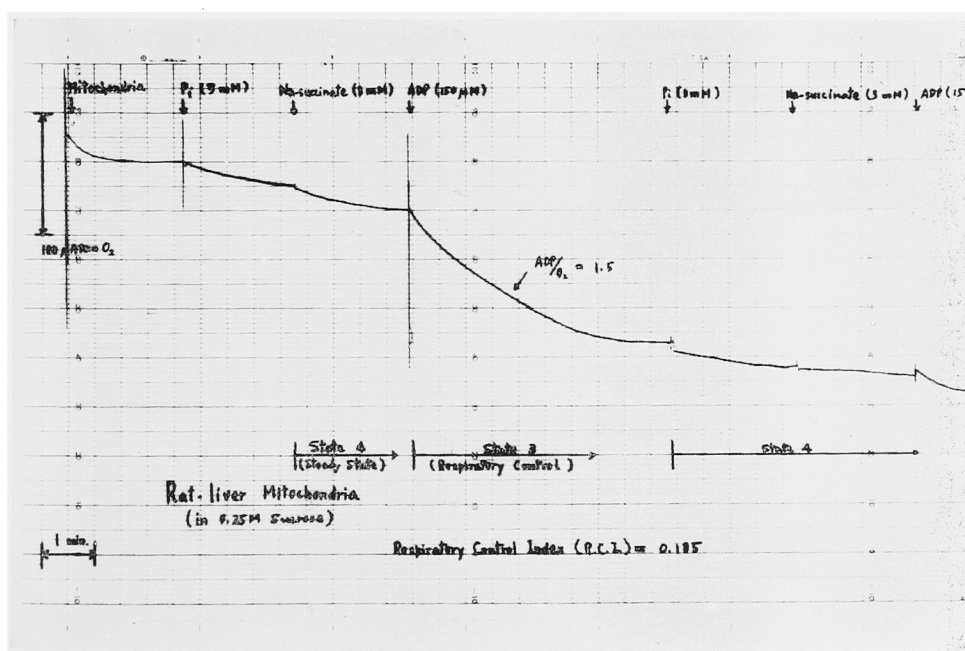


図 3

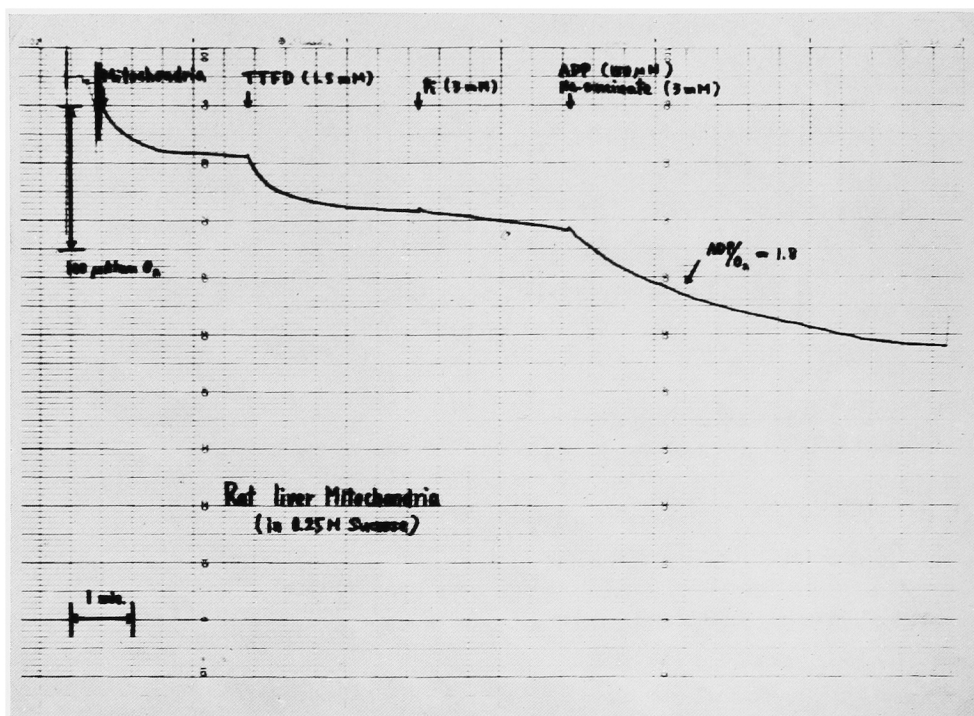


図 4

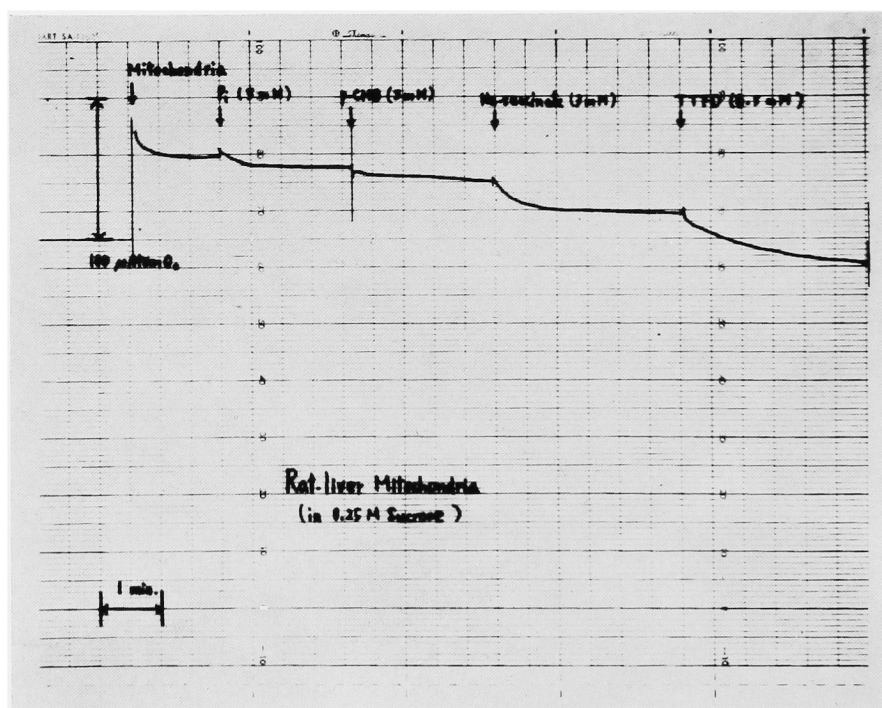


図 5

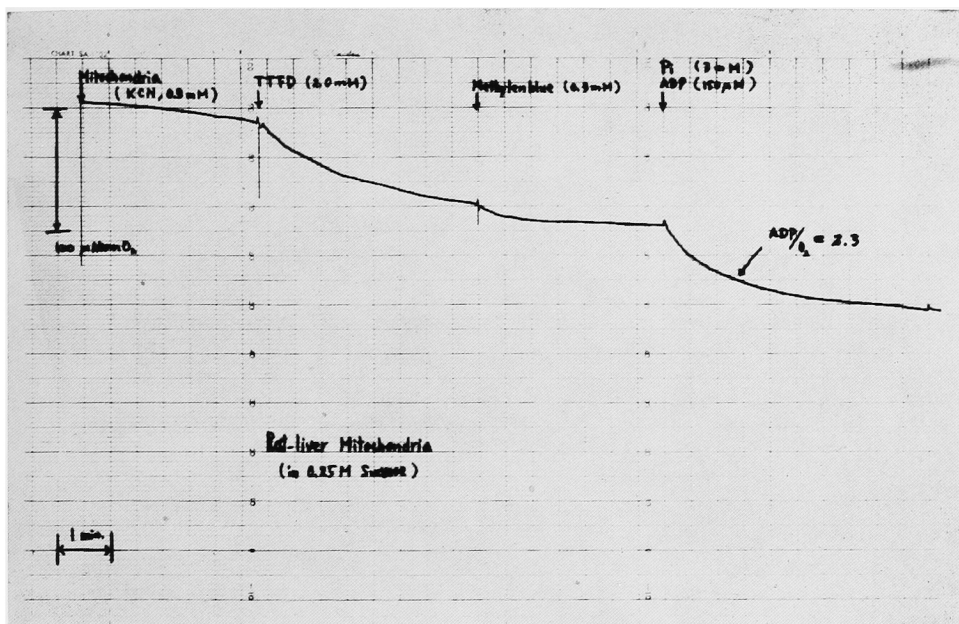
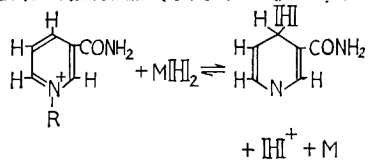


図 6

(1) DPN⁺の還元反応 (COLOWICK et al.)



(2) FMNの還元反応 (WHITE et al.)

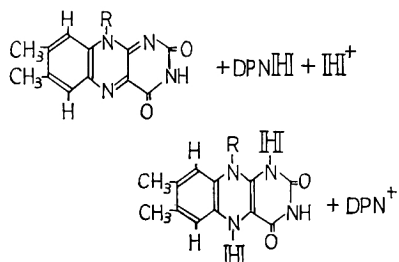


図7 Nucleotide の Proton 反応

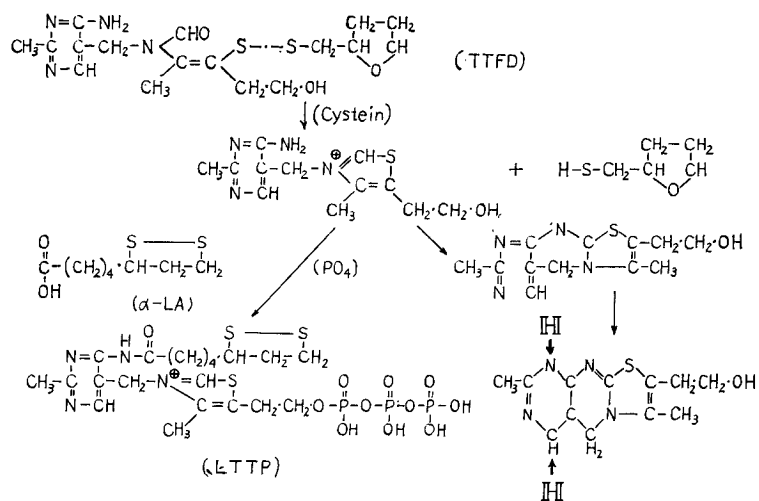


図 8 TTFD の変換反応