

運動時の血圧調節能の個体差と運動処方

—生体内ドーパミン硫酸抱合体との関係—

大阪大学 山本 隆 宣

(共同研究者) 同

大和谷 厚

Regulation of Blood Pressure during Exercise: Implications for the Role of Dopamine-O-Sulfoconjugate

by

Takanobu Yamamoto and Atsushi Yamatodani

*Department of Pharmacology II,
Osaka University Medical School*

ABSTRACT

1. Dopamine sulfoconjugated isomers were synthesized chemically and used for determinations of them in urine.
2. Dopamine-O-sulfoconjugate and free adrenaline, noradrenaline and dopamine in urine were determined by high-performance liquid chromatography.
3. Increase of systolic blood pressure during exercise (3 km running) was associated with parallel increase in the free noradrenaline excretion in urine.
4. Excretion of dopamine-3-O-sulfoconjugate 1hr after the cessation of exercise decreased to lower levels (1.7 ± 0.6 nmol/min) than that of pre-exercise levels (2.3 ± 0.5 nmol/min).
5. Negative phase response of systolic blood pressure for recovery of exercise was correlated with dopamine-3-O-sulfoconjugate excretion.

1. 緒 言

運動時の血圧上昇は、交感神経系機能の高進による。したがって、交感神経系機能を反映しているとされる生体内ノルアドレナリンを測定することは、運動時血圧調節機序を知るうえで有用である。

一方、最近ドーパミンの抱合体であるドーパミン硫酸抱合体（大部分が 3-O-硫酸抱合体である）が、カテコールアミン含量を調節し、血圧をコントロールしているとの推論も呈示されている¹⁾。しかしながら、運動時のドーパミン硫酸抱合体の血圧に対する影響への報告は見あたらない。

そこで本研究では、尿中遊離型ノルアドレナリン、アドレナリンおよびドーパミンを定量し、運動に伴う排泄量の変化を調べた。また、血圧上昇の程度とそれらカテコールアミン排泄量との関係を検討した。

さらに、尿中ドーパミン-3-O-硫酸抱合体の微量定量を確立し、運動に伴う排泄量の変化と血圧との相関を検討した。

2. 実験方法

被験者は18~20歳の大学剣道部に所属する男子学生3名である。身長は167~173cm、体重は58~75kgで、剣道歴は4~13年の熟練者であるが、ランニングに関する特別なトレーニングは行っていない。

ランニングは、任意のスピード(206~230m/分)で3kmを課した。採尿は、運動開始前30分間尿(前)、運動後10分間尿(後)、さらに50分間尿(1時間後)の3回行なった。血圧、脈拍数の測定は、前、直後、10分後、1時間後の4回行なった。

尿中遊離型アドレナリン、ノルアドレナリンは、前処理を自動化したデュアルカラムシステム

の高速液体クロマトグラフィー—THI法で定量した²⁾。尿中遊離型ドーパミンは、前述の高速液体クロマトグラフィーの検出系を、*p*-アミノ安息香酸による方法³⁾に変えて測定した。

ドーパミン硫酸抱合体の測定に先立って、定量に必要な標準品は、Jenner と Rose⁴⁾の方法に改良を加え合成した。尿中のこれらの物質は、尿0.5mlをDowex-1カラムさらにDowex-50カラムであらかじめ精製し、陰イオン交換樹脂を固定相とする高速液体クロマトグラフィーにより分離し、電気化学的検出器法で定量した⁵⁾。回収率はおよそ70%であった。

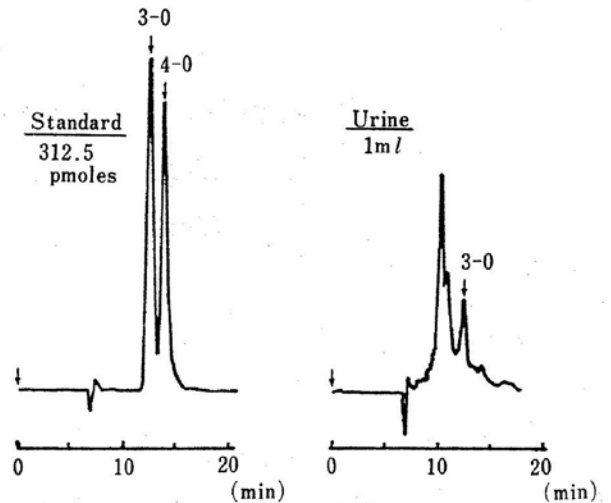


図1 Chromatogram of dopamine-O-sulfoconjugate isomers

図1には標準品および尿試料のクロマトグラムを示した。値はすべて分時排泄量に換算した。

3. 実験結果

1) ドーパミン硫酸抱合体の合成とその分離

ドーパミン塩酸塩に濃硫酸を反応させることにより、ドーパミン-3-O および 4-O-硫酸抱合体の他に、ドーパミン-6-sulphonic acid⁶⁾と考えられる物質と2つの未知物質が確認された。

そこで、Dowex-50 および Dowex-1 カラムで各物質を精製し再結晶を行なうことにより、ドー

パミン-3-O および 4-O-硫酸抱合体を単離した。その結果, ^1H NMR 解析により, それぞれ 90%以上の純度で合成できたことを確認した。

こうして合成した標準品を用い, 高速液体クロマトグラフィーの分離条件を種々検討した結果, 移動相に pH7.0 のりん酸緩衝液を, 固定相に陰

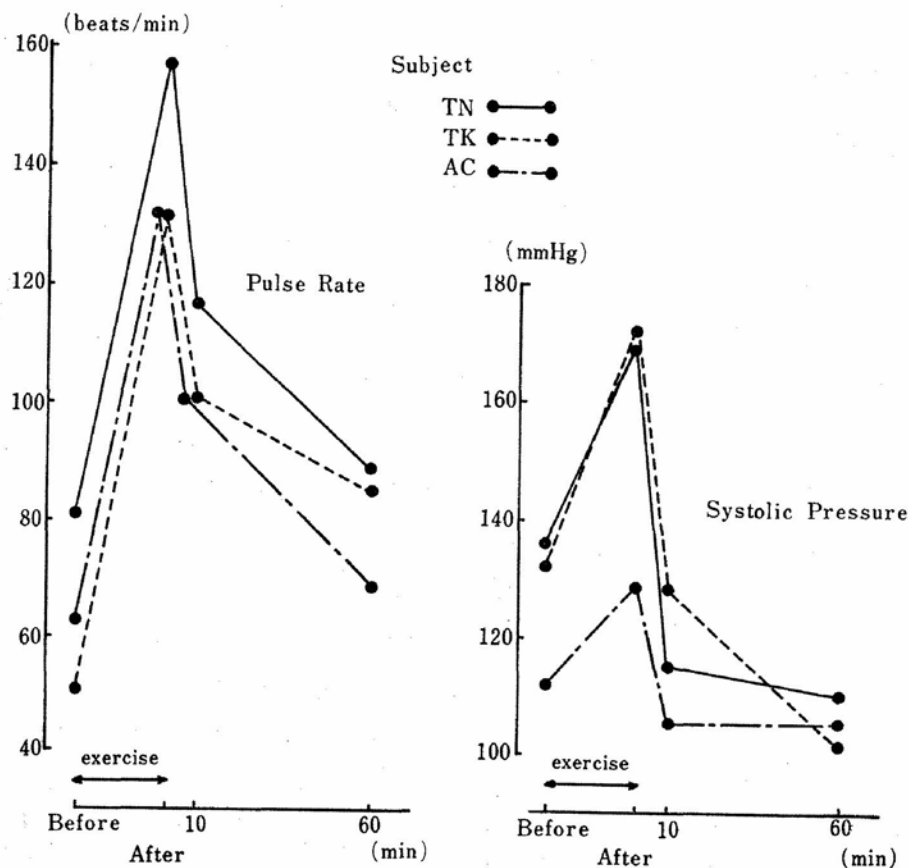


図2 Changes of pulse rate and systolic blood pressure induced by the 3km running.

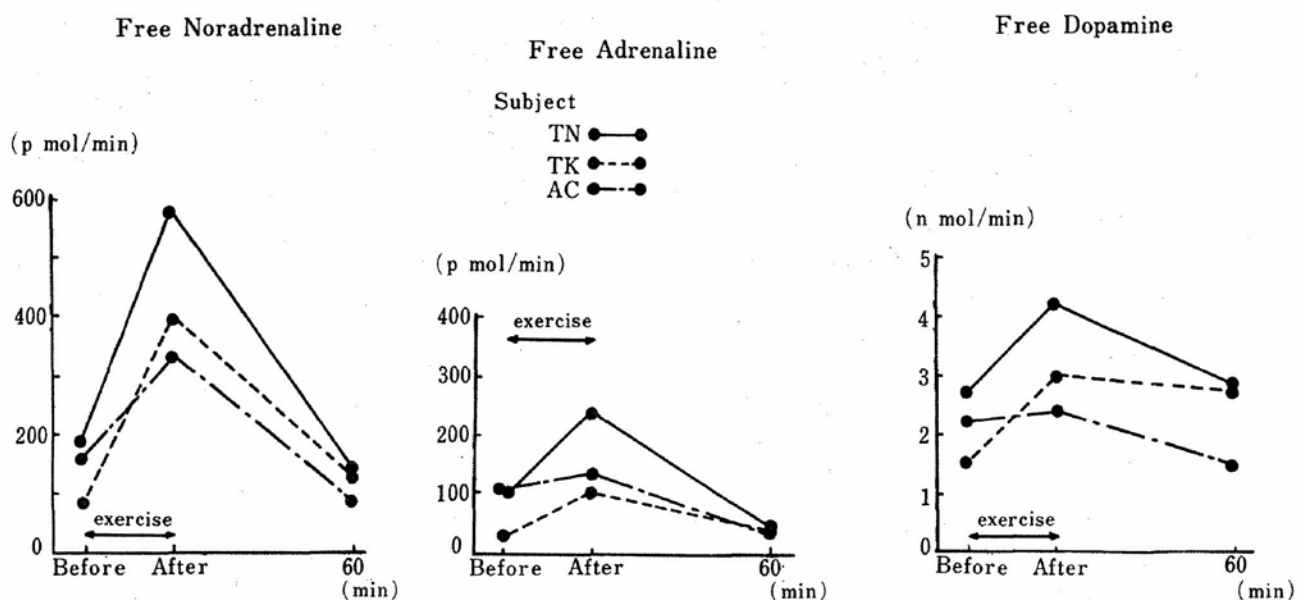


図3 Excretion of free noradrenaline, adrenaline and dopamine immediately after 3km running and 60minutes later.

イオン交換樹脂である TSK-IEX 530 DEAE を用いた高速液体クロマトグラフィーで良好な分離が可能となった (図 1)。

ヒト尿中 1 日排泄量は, ドーパミン-3-O-硫酸抱合体は, 3.8 ± 1.8 n mol/day ($n=5$) であり, 4-O-硫酸抱合体も若干量検出できた。

2) 運動中の血圧の個体差 (図 2) とノルアドレナリン排泄量 (図 3)

被検者 TN と TK は, 運動により最高血圧がそれぞれ 170mm Hg, 172mm Hg と顕著に上昇した。一方, AC は 128mm Hg と緩徐な上昇にとどまった。これらの変化は, ノルアドレナリンの排泄量に最もよく反映していたが, アドレナリン, ドーパミンとも相関した。脈拍数においては, 3 名とも運動で著明に上昇したが, 最高血圧に比べ個体差は少なかった (図 2)。これら 3 種のカテコールアミンは, 運動の休止とともに前値に戻った。

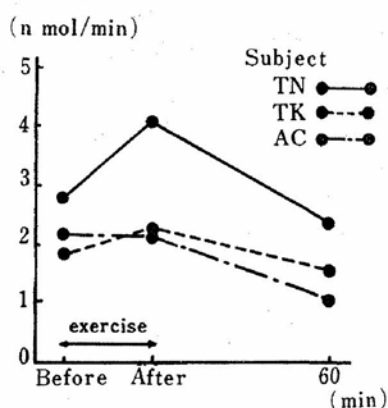


図 4 Excretion of dopamine-3-O-sulfate conjugate immediately after 3km running and 60 minutes later.

3) 運動後の回復期における血圧変化 (図 2) とドーパミン-3-O-硫酸抱合体排泄量 (図 4)

運動によるドーパミン-3-O-硫酸抱合体排泄量の変化も, 上述の 3 種のカテコールアミンと相関していた。しかし, ドーパミン-3-O-硫酸抱合体

排泄は, 運動 1 時間後では 3 名とも前値 (2.3 ± 0.5 n mol/min) よりも低値 (1.7 ± 0.6 n mol/min) を示し, 最高血圧の運動後 10 分から 60 分にかけて出現した陰性期と一致していた。脈拍数においては, 運動 1 時間後も前値には戻らなかった。

4. 考 察

ノルアドレナリンは運動の強さ²⁾, 持続時間⁷⁾に応じて交感神経系末端部より放出量が増すことは, 従来より報告されており, その起源は比較的明確である。アドレナリンも副腎髄質より由来することは明らかであり, 運動に伴う増加は, 交感神経-副腎系の高進の結果と考えることができる。したがって, 各自の最高血圧の上昇程度は, 運動強度とよく相関するものと推察される。

ドーパミン硫酸抱合体の起源および生理的意義は今なお不明であるが, 腎臓⁸⁾, 血小板⁹⁾, 脳¹⁰⁾, 赤血球¹¹⁾などに Phenol-sulfotransferase 活性が見出されており, 極めて広範囲で遊離型ドーパミンが硫酸抱合化され, 尿および血中に出現して来る可能性がある。生理的意義を指摘する報告では, 血中ドーパミン硫酸抱合体が交感神経より由来する¹²⁾, 高血圧者で血中のそれが高値を示す¹³⁾, 外因性ドーパミン硫酸抱合体の脳室内投与により血圧が上昇する¹⁴⁾など, 単なる排泄型ではなく, 血圧調節に関与している可能性を示唆するものがある。

運動負荷により一過性のドーパミン硫酸抱合体の脱抱合¹⁵⁾をひき起こし, 遊離型ドーパミン形成を促進すると考えると, 運動 1 時間後の尿中ドーパミン-3-O-硫酸抱合体の前値に比した排泄量の減少は, 運動の影響に伴う回復時の脱抱合を反映したものと推察できる。加えて, Cavero ら¹⁶⁾は, 特殊な生理的状況下では, 交感神経節後ニューロンのドーパミン-D₂-レセプターが刺激され, その結果ノルアドレナリンの神経末端からの放出を減

じ、血管抵抗および心拍数の受動的な下降をひき起こすことを指摘している。本実験のように、1時間後のドーパミン-3-O-硫酸抱合体の減少と同時期にみられる最高血圧の陰性期の出現は、形成された遊離型ドーパミンが交感神経節後ニューロンにおけるドーパミン-D₂-レセプターに作用した結果生じたものと解されるが、この点については、今後、血中ドーパミン-3-O-硫酸抱合体の定量法を開発し、その動態を明らかにしていきたい。

尿中遊離型ドーパミンは、起源および運動時の変動に対する見解が報告者により異なっており、今後さらに検討を要する。

5. ま と め

1) 運動中の最高血圧の上昇は、ノルアドレナリンの排泄量が最もよく相関し、各個人の運動強度に依存している。

2) 運動回復期の最高血圧の下降は、ドーパミン-3-O-硫酸抱合体排泄量がよく相関し、血圧調節に関与する可能性がある。

これらは今後、スポーツ科学の運動処方において有力な指標になりうる。

本研究において、NMR 解析にあたり、サントリ-生物医学研究所、納谷先生のご協力を得た。さらに摂南大学保健体育教室 荒木先生、坪内先生、剣道部員のご協力を得た。ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) Otto Kuchel, Nguyen T. Buu, Michel Bourque, Pavel Hamet, and Pierre Larochelle; *J. Clin. Endocrinol. Metabo.* **54** : 1268 (1982)
- 2) Atsushi Yamatodani, and Hiroshi Wada; *Clin. Chem.*, **27** : 1983 (1981)
- 3) Tokuichiro Seki, and Masayasu Hamaji; *J. Chromatogr.*, **162** : 388 (1979)
- 4) William N. Jenner, and Frederic A. Rose; *Biochem. J.*, **135** : 109 (1973)
- 5) 山本隆宣・大和谷厚・和田 博; 日本薬理学会近畿部会抄録, P 35, 1983.
- 6) Barbara A. Osikowska, J.R. Idle, F.J. Swinbourne, and P.S. Sever; *Biochem. Pharmac.*, **31** : 2279 (1982)
- 7) 山本隆宣・長尾憲樹・小野三嗣; 体育学研究, **26** : 207 (1981)
- 8) Robert J. Anderson, Richard M. Weinshilboum, Sidney F. Phillips, and Daniel D. Broughton; *Clinica. Chimica. Acta.*, **110** : 157 (1981)
- 9) Paula R. Butler, Robert J. Anderson, and Duane L. Venton; *J. Neurochem.*, **41** : 630 (1983)
- 10) Kevin J. Renskers, Kevin D. Feor, and Jerome A. Roth; *J. Neurochem.*, **34** : 1362 (1980)
- 11) Robert J. Anderson, and Richard M. Weinshilboum; *J. Lab. Clin. Med.* **94** : 158 (1979)
- 12) Pin-chang Wang, Otto Kuchel, Nguyen T. Buu, and Jacques Genest, *J. Neurochem.*, **40** : 1435 (1983)
- 13) Otto Kuchel, Nguyen T. Buu, Pavel Hamet; Pierre Larochelle, Michel Bourque, and Jacques Genest. *Hypertention.*, **4** : 845 (1982)
- 14) Nguyen T. Buu, and Johanne Duhaime; *Fed. Proc.*, **41** : 1670 (1982)
- 15) Stuart R. Snider, and Otto Kuchel; *Endocrine Reviews.*, **4** : 291 (1982)
- 16) Icilio Cavero, Roy Massingham, and Françoise Lefevre-Borg; *Life Sciences*, **31** : 939 (1982)