

魚類黒色素胞のアドレナリン凝集機構

III. フェニールエチルアミンの作用

伊 賀 哲 郎

Action of Beta-phenylethylamine on the Melanophores in a Teleost,
Oryzias latipes

Tetsuro IGA

Department of Biology, Shimane University, Matsue, Japan

(Received November 30, 1967)

ABSTRACT

The responses of melanophores in isolated scales of *Oryzias latipes* to beta-phenylethylamine were investigated under a microscope. Beta phenylethylamine (10^{-6} — 10^{-3} M) induced concentration of the pigment within innervated melanophores, but did not do within denervated ones. When beta-phenylethylamine was locally applied on a scale with innervated melanophores, only those in the applied area responded in clear contrast to the remaining ones which remained in a condition of full dispersion. These results may be interpreted to indicate that the drug may acts upon the concentrating-nerve endings to cause a release of an active neurohumour. The failure of the direct action on melanophores may be attributable to the absence of the phenolic OH group on the ring in the structure of the drug. The melanophores treated with the drug maintained a concentrating state for long time, even after the test solution was replaced with physiological solution.

メダカの摘出うろこ黒色素胞に対する sympathomimetic amine の作用に関して、第 I 報および第 II 報ではそれぞれ芳香環に 2 個および 1 個の OH 基をもつ薬物について述べ、黒色素胞のアドレナリン凝集には芳香環の OH 基が重要な意味をもつことを指摘した。今回は芳香環にまったく OH 基をもたない arylalkylamine 類のうち、直鎖状炭素群にも OH 基をもたない beta-phenylethylamine について、黒色素胞に対する作用を調べた。

材 料 と 方 法

野生型メダカ *Oryzias latipes* (体長22—35mm) の摘出うろこ黒色素胞を材料として用いた。胴部の体表から抜き出したうろこの一枚をガラス製トラフに固定し、黒色素胞の状態を顕微鏡

で観察した。摘出後のうろこは試験液を作用させる時以外は常に生理的塩類溶液 (M/7.5 NaCl : M/7.5 KCl : M/11 CaCl₂ = 100 : 2.0 : 2.1, NaHCO₃により pH 7.2に調節してある。) に保った。beta-phenylethylamine 塩酸塩はこの生理的塩類溶液に溶解したものをういた。KCl 溶液としては生理的塩類溶液と等張 (M/7.5) のものをNaHCO₃で pH 7.2として使用した。黒色素胞の状態は任意に選んだ1本の枝の長さの百分率で表わし、完全拡散状態を100, 完全凝集状態を0とした拡散度で表わした。神経退化標本の作製および神経退化の確認は既報 (伊賀, 1968a) のそれと同じであった。

結 果

1. 正常黒色素胞に対する作用

薬物の適用に先だて、等張 KCl 溶液を3—5分作用させて、黒色素胞の完全凝集値を測定した。

各種濃度 (10^{-7} — 10^{-3} M) の beta-phenylethylamine を10分間作用させ、その際に誘起される反応を記録した。その後再び生理的塩類溶液にかえし、その液中での状態の変化を観察した。各濃度での代表例を第1図に示した。黒色素胞凝集に対するいき濃度は 10^{-6} M程度であり、

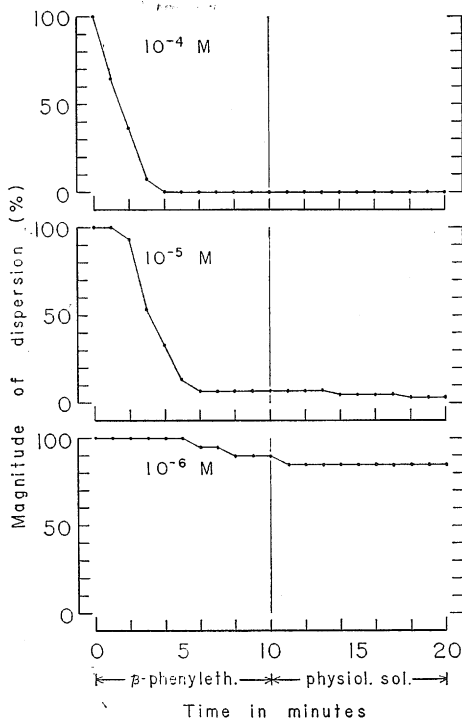


Fig. 1. Typical responses to beta-phenylethylamine of innervated melanophores of *Oryzias latipes*. Room temp.: 18.2—19.2°C.

10^{-5} Mでは黒色素胞はほぼ完全な凝集を示した。処理後、生理的塩類溶液に戻すと、 10^{-6} M処理ではその凝集状態がほとんどそのまま持続され、 10^{-5} Mでは凝集がさらに進行した。このように beta-phenylethylamine は、それで処理すると、生理的塩類溶液に戻した後にでも凝集が持続したり、さらには進行する性質が著しい。

このような測定を各濃度について11—12例行い、試験液適用中での最大凝集値から平均値と標準誤差を算出し、濃度—反応関係を求めた (第2図)。これより黒色素胞を半凝集させるための濃度を求めると、 3.3×10^{-6} Mとなった。

2. 神経退化黒色素胞に対する作用

あらかじめ等張KClを作用させ、黒色素胞の凝集がまったく起こらないことを確認した。正常黒色素胞の場合と同様の濃度範囲のbeta-phenylethylamine を作用させた

が、いずれの濃度においても黒色素胞の凝集はまったく認められなかった。

3. 薬物の局所適用

薬物を局部的にうろこに作用させるため、先端口経約 $100\ \mu$ のガラスピペットを薬物の溶解した生理的塩類溶液を入れた液槽に連結し、液槽の液面を観察用トラフより高くして水圧により試験液をピペット先端より噴出させるとともに反対側からこのピペットに対向する位置に入れた同様のピペットで吸引して生ずる試験液の細い流れが、うろ

この一部に当たるようにした。トラフ中の生理的塩類溶液は水流ポンプにより一方向に流し、ピペットから出た液の流れが拡がらないようにした。このような方法で、うろこの一部に試験液を作用させると、その部分の黒色素胞だけが凝集し、それに隣接する生理的塩類溶液中にある部位の黒色素胞には凝集は拡がらなかった。

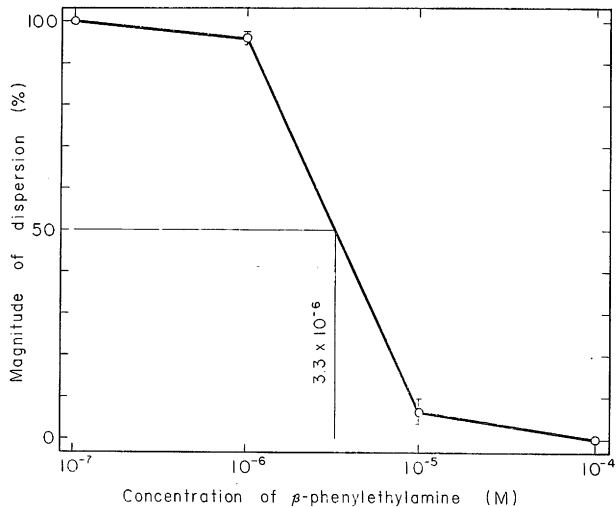


Fig. 2. Strength-response relation in the concentration response to β -phenylethylamine of innervated melanophores of *Oryzias latipes*. Perpendiculars drawn up and down from the circles indicate the standard errors of the mean. Room temp.: 18.2–21.0°C.

考 察

β -phenylethylamineはネコ、ウサギ等の血管、瞬膜、虹彩、ぼうこう、腸管等の平滑筋に対して、sympathomimetic actionをもつ。その作用は除神経および reserpine 処理後では著しい減弱を示すか、または消失することから、この薬物は典型的な間接型の sympathomimetic amine とされている (Fleckenstein and Burn, 1953; Marley, 1962; Trendelenburg et al., 1962)。一方、 β -phenylethylamine は魚類黒色素胞についても、すでに Barbour and Spaeth (1917) により *Fundulus* で凝集効果をもつことが簡単に報告されているが、その詳細、特にその作用点については明らかでない。本実験においても、 β -phenylethylamine はメダカの正常黒色素胞を凝集させる作用をもち、 10^{-6} – 10^{-4} M範囲では濃度が高い程その効果は大であった。しかし、神経退化黒色素胞では凝集はまったく認められず、この点、この薬物は哺乳類の平滑筋に対する作用と似ており、魚類黒色素胞凝集に関しても純粋な間接型アミンに分類することができる。また、正常黒色素胞を含む摘出うろこの一部に β -phenylethylamine を作用させた場合、凝集はその作用部位だけに限られることから、この薬物は凝集集

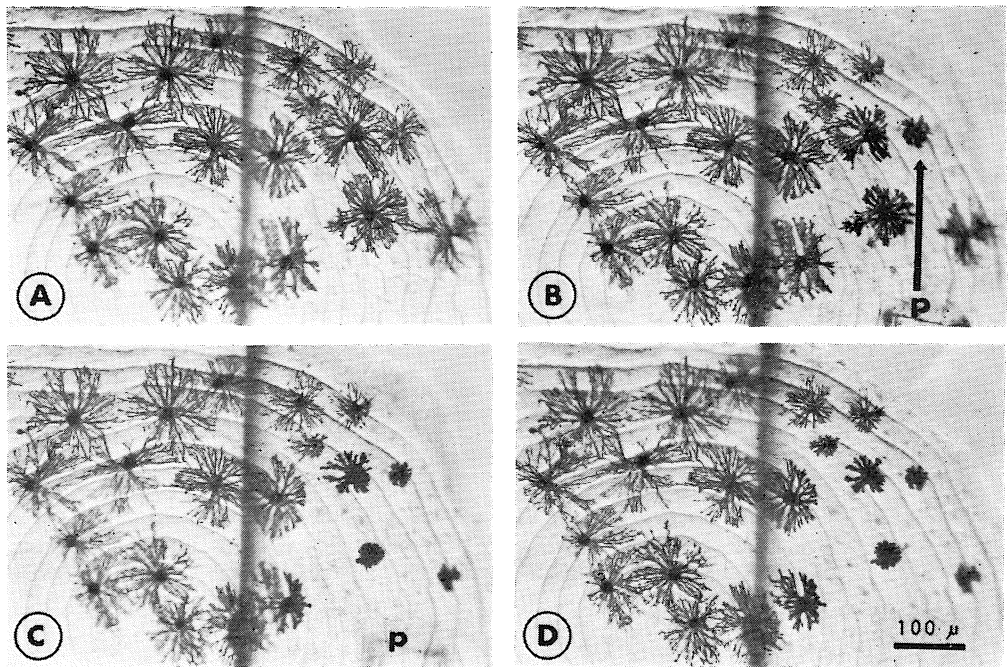


Fig. 3. Effect of local application of beta-phenylethylamine on the scale melanophores of *Oryzias latipes*. A : dispersion state in physiological solution. B and C : 3 and 5 minutes after outflow of the test solution, only the melanophores in the treated area respond in clear contrast to the remaining ones which remain in a condition of full dispersion. D : 5 minutes after the stop of outflow of the test solution. An arrow indicates the direction of the stream of beta-phenylethylamine solution. p : micropipette

経末端に働いて伝達物質の放出を促すとされている K^+ 其他いわゆる黒色素胞刺激性イオンの作用(藤井, 1958; Fujii, 1959)と似ている。ephedrineもまた哺乳類の平滑筋に対して著しいsympathomimetic actionをもつ。この作用は除神経後, 器官によりいろいろな程度で減弱はあるが, 消失しないことから混合型アミンに入れられている(Marley, 1962)。一方, メダカ黒色素胞では ephedrine は正常黒色素胞を凝集させるが, 神経退化後では凝集を起こさせ得ない(松井, 1965)。beta-phenylethylamine と ephedrine はいずれもベンゼン核にOH基を欠ぐ点では共通であり, これらの薬物の黒色素胞に対する直接作用の消失はこの点において説明できるだろう。また両薬物の正常黒色素胞に対する凝集効果には明らかな差は認められない。octopamine はtyramine の β 炭素の水素1個がOH基で置換された薬物であり, 両者の正常黒色素胞に対する凝集活性には有意の差は認められなかった(伊賀, 1968b)。このことは間接作用には β 炭素OH基は重要な関与がないのかもしれないが, 今後の研究に俟ちたい。beta-phenylethylamine の作用として著しいことは, 正常黒色素胞にそれを作用させると, 生理的塩類溶液にかえした後も凝集が持続的であることである。この点についても ephedrine の後作用と似ている。

要 約

1. メダカの摘出うろこ黒色素胞を用い、beta-phenylethylamine の作用を調べた。
2. beta-phenylethylamine (10^{-6} – 10^{-8} M) を作用させると、正常黒色素胞では凝集が起こるが、神経退化黒色素胞では凝集はみられない。またうろこの一部に beta-phenylethylamine を作用させると、凝集はその部域のみに起こり他に拡がらない。これらのことから、(a) beta-phenylethylamine は凝集神経末端を刺激することにより果粒凝集に働くと考えられる。(b) 黒色素胞に対する直接作用の消失は beta-phenylethylamine の分子構造中の phenolic OH基の欠除に起因すると思われる。
3. この薬物を作用させたあと生理的塩類溶液に戻すと、後作用による持続的凝集が著しい。

謝 辞

本実験に対し、終始御懇切な指導と助言をいただき、論文校閲の労を賜った広島大学理学部の長浜博教授に深謝の意を表する。

文 献

- BARBOUR, H. G. and R. A. SPAETH (1917) Responses of fish melanophores to sympathetic and parasympathetic stimulants and depressants. *J. Pharmacol.*, **9**: 356–357.
- FLECKENSTEIN, A. and J. H. BURN (1953) The effect of denervation on the action of sympathomimetic amines on the nictitating membrane. *Brit. J. Pharmacol.*, **8**: 69–78.
- 藤井良三 (1958) カリウムイオン及びアドレナリンの魚類黒色素胞凝集系に及ぼす作用機構 動物学雑誌 **67**: 225–229.
- FUJII, R. (1959) Mechanism of ionic action in the melanophore system of fish I. Melanophore-concentrating action of potassium and some other ions. *Annot. Zool. Japan.*, **32**: 47–58.
- 伊賀哲郎(1968a)魚類黒色素胞のアドレナリン凝集機構 I カテコールアミンの作用 動物学雑誌, **77**:
 ——— (1968b) 魚類黒色素胞のアドレナリン凝集機構 II チラミン類の作用 島根大学文理学部紀要 (理学篇) **1**: 52–62
- MARLEY, E. (1962) Action of some sympathomimetic amines on the cat's iris, in situ or isolated. *J. Physiol.*, **162**: 193–211.
- 松井愛子 (1965) メダカ黒色素胞に対するエフェドリンの作用 広島大学生物学会誌 **32**: 14–23.
- TRENDELENBURG, U., A. MUSKUS, W. W. FLEMING and B. G. A. DE LA SIERRA (1962) Modification by reserpine of the action of sympathomimetic amines in spinal cats; A classification of sympathomimetic amines. *J. Pharmacol.*, **138**: 170–180.