# ウシ虹彩のカテコールアミンとその生合成（図7，表3）

横田健司・栗本晋二（産業医科大学眼科学教室）
柳原延章・泉　太（産業医科大学薬理学教室）

# The Synthesis of Catecholamines in Bovine Iris in vitro

**Kenji Yokota, Shinji Kurimoto*, Nobuyuki Yanagihara and Futoshi Izumi****

*Departments of *Ophthalmology and **Pharmacology, University of Occupational and Environmental Health, School of Medicine*

## 要　約

ウシ虹彩の内在性カテコールアミン（CA）を高速液体クロマトグラフィーにより測定するとともに放射性基質を用いてCA生合成について検討した．内在性CA総量の大部分はノルエピネフリン（NE）であった．微量ではあるがドーパミンとエピネフリン（E）の存在も証明された．$^{14}$C-チロジンからの$^{14}$C-CA生合成総量は，0.15±0.01nmol/g湿重量/時であった．一方$^{14}$C-ドーパーを基質として用いた場合には1.19±0.06nmol/g湿重量/時の$^{14}$C-CAが形成された．このことからウシ虹彩においてもチロジン水酸化酵素がNE生合成の律速段階であることが証明された．また，CA生合成は脱分極剤により促進されin vivoにおいては神経インパルスによりNE生合成が促進される可能性が示唆された．$\alpha_1$-アドレナリン性受容体のアゴニストは$^{14}$C-CAの生合成を抑制した．その抑制はアゴニストが交感神経終末に取り込まれ直接チロジン水酸化酵素を阻害することによることが示された．（日眼　92：139—145，1988）

キーワード：ウシ虹彩，カテコールアミン，生合成，チロジン水酸化酵素

## Abstract

**The endogenous catecholamines of bovine iris were analysed using high performance liquid chromatography. The synthesis of catecholamines was measured using $^{14}$C-tyrosine as a substrate. The total amount of endogenous catecholamines in bovine iris was 1.91±0.05nmol/g wet wt (n=5). Norepinephrine was the major catecholamine. The presence of low levels of dopamine and epinephrine was also demonstrated. The synthesis of $^{14}$C-dopamine and $^{14}$C-norepinephrine (+$^{14}$C-epinephrine) was 0.043±0.002 (n=5) and 0.11±0.01 (n=5) nmol/g wet wt/h, respectively. From the endogenous level of norepinephrine and the rate of $^{14}$C-norepinephrine synthesis, the turnover time of norepinephrine in bovine iris was calculated to be 15.7 hours. The late-limiting step of catecholamine synthesis was confirmed to be tyrosine hydroxylase since 8times more $^{14}$C-catecholamines were formed when $^{14}$C-dopa was used as a substrate instead of $^{14}$C-tyrosine. The synthesis of catecholamines was enhanced by a high $K^+$ solution or depolarizing agents such as veratridine and ouabain, suggesting that catecholamine synthesis in vivo is enhanced by nerve impulse. $\alpha_1$-adrenergic agonist, phenylephrine seems to inhibit tyrosine hydroxylase activity after it is taken up by the sympathetic nerve terminals. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92 : 139—145, 1988)**

**Key words : Bovine iris, Catecholamine, Synthesis, Tyrosine hydroxylase**

別刷請求先：807　北九州市八幡西区医生ヶ丘1番1号　産業医科大学眼科学教室　横田　健司
（昭和62年7月30日受付）
Reprint requests to : Kenji Yokota, M.D.　Dept. of Ophthalmol., Univ. of Occupational and Environmental Health, Japan
1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyusyu 807, Japan
(Accepted July 30, 1987)

## I 緒　言

虹彩の瞳孔散大筋は上頚神経節からの交感神経節後線維の支配を受けている[1]．その終末にはノルエピネフリンが貯蔵されており，神経の興奮により遊離されたノルエピネフリンが平滑筋の$\alpha_1$-アドレナリン性受容体を刺激することによりその収縮すなわち瞳孔の散大がおこる．組織化学的研究[2]により虹彩への交感神経はその終末において広範な分岐を示し平滑筋表面に終末することが示されている．交感神経支配臓器におけるノルエピネフリン生合成系の研究は従来主として心臓[3)~5)]，脾臓[6)~8)]，輸精管[9)~12)]などにおいておこなわれており，虹彩でのノルエピネフリン生合成については殆ど研究されていない．今回著者らはウシ虹彩のカテコールアミンレベルを高速液体クロマトグラフィーにより測定すると共に放射性基質を用いてカテコールアミン生合成とそれに対する薬物の影響について検討した．

## II 実験方法

### 1. ウシ虹彩の摘出法

死後速やかに摘出したウシ眼球を食肉センターより氷冷下搬送し，直ちに氷冷酸素飽和Krebs-Ringerリン酸緩衝液（KPPと略）に移した．KRPの組成は$NaCl$ 154mM，$KCl$ 5.6mM，$MgSO_4$ 1.1mM，$CaCl_2$ 2.2mM，$NaH_2PO_4$ 0.85mM-$Na_2HPO_4$ 2.15mM（pH 7.3），ブドウ糖1.8g/$l$であった．角膜輪部に垂直切開を加え，メスで輪部全周を切開して角膜を除去した．ついで瞳孔縁より虹彩に放射状の切開を加え虹彩を毛様体から切り離した．得られた虹彩は略三等分して氷冷溶液中に浮遊させた．実験にあたっては異なった眼球より得た虹彩切片各4～5枚を用い，ろ紙上に伸展したあとその湿重量を測定した．

### 2. 高速液体クロマトグラフィーによる内在性カテコールアミンの定量

虹彩組織を0.4M過塩素酸中でホモゲナイズし30分間氷冷後，遠心（5,000×g，10分）により除タンパクし，その上清をカテコールアミン定量に用いた．カテコールアミンは常法にのっとり水酸化アルミニウムに吸着[13)]させ，ついで800$\mu$lの1Mリン酸にて溶出させた．これらの操作におけるカテコールアミンの回収率は約70%であった．ついで50$\mu$lのサンプルをCosmosil 5C-18カラム（半井化学，0.46×15cm）を用いたHITACHI 655A-11型高速液体クロマトグラフィーにより流速1.0ml/分で遊出させ電気化学的検出器（柳本四極式ボルタンメトリー検出器VMD-501型）により測定した．内部標準としてデハイドロオキシベンジルアミンを用いた．移動相の組成は0.1Mリン酸緩衝液，0.03mM EDTA-2Na，0.1mMオクタスルホン酸ソーダ（pH 3.1）であった．

### 3. カテコールアミン生合成

虹彩切片（600～800mg湿重量）を2ml KRP中で〔U-$^{14}$C〕チロジン（Amersham，$2\times10^{-5}$M，$2.35\times10^6$ dpm）と37℃，60分間反応させた．反応終了後反応溶液を除去し，組織を0.4M過塩素酸によりホモゲナイズした．除タンパク後$^{14}$C-カテコールアミンを水酸化アルミニウムに吸着させ，ついでDuolite C-25イオン交換クロマトグラフィー（室町化学，$H^+$タイプ）カラム[14)15)]（0.4×7cm）により$^{14}$C-ノルエピネフリンと$^{14}$C-エピネフリンを含む分画と$^{14}$C-ドーパミンの分画に分離した．放射活性は液体シンチレーションカウンターにより測定した．ドーパーからのカテコールアミン生合成にはL-3，4-ジヒドロキシ〔3-$^{14}$C〕フェニルアラニン（Amersham，$4.5\times10^{-5}$M，$2.15\times10^6$dpm）を基質として用いた．

### 4. ウシ虹彩から調製したチロジン水酸化酵素活性の測定

虹彩切片（湿重量約3.0g）を10倍量の10mM Hepes緩衝液（pH 7.4）中でホモゲナイズし，105,000×g，60分の上清即ち細胞質分画を得た．ついで酸化アルミニウムカラム（2×5cm）を通過させカテコールアミンを吸着除去した．更に細胞質分画を限外濾過装置（AMICON®，Pmax 75psi，PM-10膜使用）にて濃縮しチロジン水酸化酵素標品とした．反応はWeiner[16)17)]等による方法に従い，10mM Hepes緩衝液，5mMアスコルビン酸，5mM EGTA，カタラーゼ6,500単位（pH 7.4）を用い，L-〔1-$^{14}$C〕チロジン（New England Nuclear，$10^{-4}$M，$1.8\times10^5$dpm）を基質とし，0.25mMメチルテトラハイドロプテリンをcofactorとして添加し，30℃，20分間，終容量100$\mu$lで反応（チロジン水酸化反応）させた．その後，部分精製したドーパー脱炭酸酵素（豚の腎臓より抽出）と37℃，30分間反応させ，発生した$^{14}CO_2$をカウントしてそのチロジン水酸化酵素活性とした．

## III 結　果

### 1. ウシ虹彩内在性カテコールアミンの測定

Cosmosil® 5C-18カラムを用いた高速液体クロマト

グラフィーによりノルエピネフリン，エピネフリン，ドーパミンの良好な分離が得られた(図1)．いずれのカテコールアミンもその検出限界は0.1pmolのオーダーであった．表1に示す如くウシ虹彩の総カテコールアミン量は1.91±0.05nmol/g湿重量（n=5）であり，その大部分はノルエピネフリンであった．最も含量の少ないドーパミンの場合でも0.07±0.01nmol/g湿重量であり，ちなみにこれは検出限界の約700倍に相当する．

**2. ウシ虹彩におけるカテコールアミンの生合成**

ウシ虹彩における$^{14}$C-チロジンからの$^{14}$C-カテコールアミン生合成のタイムコースを図2に示した．$^{14}$C-ノルエピネフリン+$^{14}$C-エピネフリンの生合成は2時間の反応時間にわたりほぼ直線に進行した．$^{14}$C-ドーパミンの生合成は1時間にわたり直線的に進行し，ついで生合成速度は低下した．反応開始後1時間における$^{14}$C-カテコールアミン生合成総量は0.15±0.01 nmol/g湿重量（n=12）であり，このうち73%はノルエピネフリン+エピネフリンであった．$^{14}$C-ドーパーを基質として反応させた場合$^{14}$C-カテコールアミン生合成総量は1.19±0.06nmol/g湿重量（n=5）であり，このうち35%が$^{14}$C-ノルエピネフリン+$^{14}$C-エピネフリンであり，65%は$^{14}$C-ドーパミンであった（表2）．

**3. 脱分極性薬物によるカテコールアミン生合成の促進**

交感神経終末の脱分極剤である高濃度$K^+$(56mM)，ベラトリジン（$10^{-4}$M），ウアバイン（$10^{-4}$M）はいずれも$^{14}$C-カテコールアミン生合成を促進した．高濃度$K^+$は主として$^{14}$C-ノルエピネフリン+$^{14}$C-エピネフリンの生合成を促進した．ベラトリジンはいずれのアミンの生合成を促進し，ウアバインは$^{14}$C-ドーパミンの生合成のみを促進した（表3）．

**4. $^{14}$C-カテコールアミン生合成に対する交感神経作動性薬物の影響**

$^{14}$C-チロジンからの$^{14}$C-カテコールアミン生合成に対するいくつかの自律神経薬物の影響について検討した．フェニレフリン，ノルフェネフリンなどの$\alpha_1$-アドレナリン性受容体のアゴニストは$^{14}$C-カテコールアミンの生合成を著しく抑制した（図3）．$^{14}$C-カテコールアミン生合成を50%抑制するフェニレフリンの濃度は

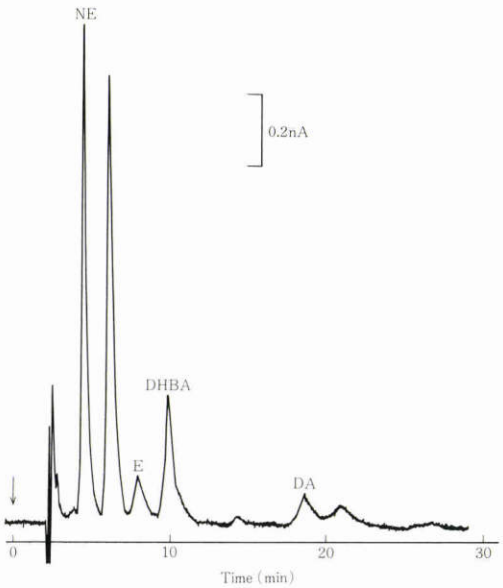


図1　高速液体クロマトグラフィーフローチャート．NE，ノルエピネフリン；E，エピネフリン；DA，ドーパミン；DHBA，デハイドロオキシベンジルアミン．

**表1**　ウシ虹彩内在性カテコールアミン

| カテコールアミン | (nmol/g wet wt) |
|---|---|
| ノルエピネフリン | 1.73±0.09（n=6） |
| エピネフリン | 0.11±0.02（n=5） |
| ドーパミン | 0.07±0.01（n=5） |

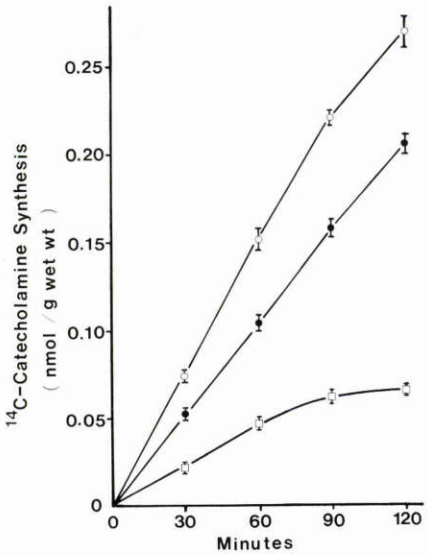


図2　ウシ虹彩における$^{14}$C-チロジンからのカテコールアミン生合成．○—○　総$^{14}$C-カテコールアミン，●—●　$^{14}$C-ノルエピネフリン+$^{14}$C-エピネフリン，□—□　$^{14}$C-ドーパミン

表2　ウシ虹彩における$^{14}$C-カテコールアミン生合成

| 基　質 | $^{14}$C-ドーパミン | $^{14}$C-ノルエピネフリン＋$^{14}$C-エピネフリン | 総カテコールアミン |
|---|---|---|---|
| | (nmol/g wet wt/60 min) | | |
| $^{14}$C-チロジン | 0.043±0.002 | 0.11±0.01 | 0.15±0.01（n＝12） |
| $^{14}$C-ドーパー | 0.77 ±0.05 | 0.42±0.03 | 1.19±0.06（n＝ 5） |

表3　$^{14}$C-チロジンからのカテコールアミン生合成
高濃度$K^+$，56mM；ベラトリジン，$10^{-4}$M；ウアバイン，$10^{-4}$M.

| 刺激剤 | $^{14}$C-ドーパミン | $^{14}$C-ノルエピネフリン＋$^{14}$C-エピネフリン | 総カテコールアミン |
|---|---|---|---|
| | (nmol/g wet wt/60 min) | | |
| None | 0.043±0.002 | 0.11±0.01 | 0.15±0.01（n＝12） |
| 高濃度$K^+$ | 0.057±0.005 | 0.19±0.03 | 0.25±0.03（n＝ 5） |
| Veratridine | 0.092±0.011 | 0.16±0.02 | 0.25±0.03（n＝ 5） |
| Ouabain | 0.169±0.019 | 0.11±0.05 | 0.28±0.07（n＝ 5） |

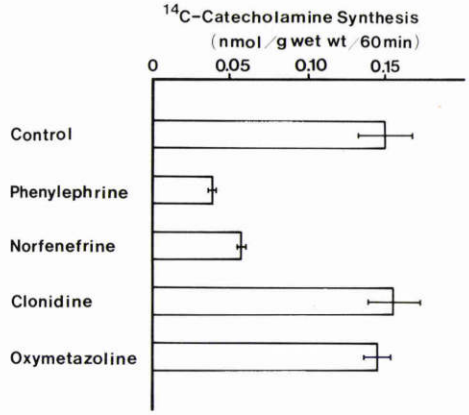


図3　$^{14}$C-チロジンからのカテコールアミン生合成に対する交感神経作動性薬物の影響．薬物濃度はすべて$10^{-4}$M.

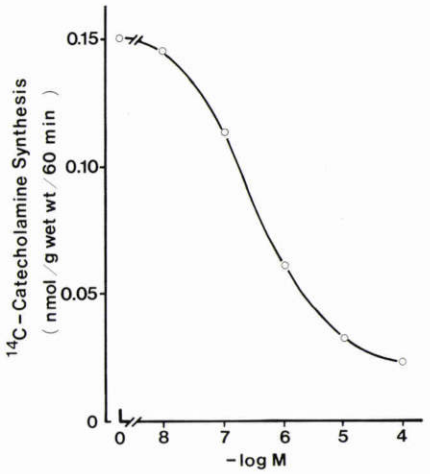


図4　$^{14}$C-チロジンからのカテコールアミン生合成に対するフェニレフリンの阻害作用

$3\times10^{-7}$Mであった（図4）．$\alpha_2$-アドレナリン性受容体のアゴニストであるクロニジン，オキシメタゾリンは$^{14}$C-カテコールアミン生合成を抑制しなかった．また$^{14}$C-ドーパーからの$^{14}$C-カテコールアミン生合成はフェニレフリンにより抑制されなかった（図5）．なおフェニレフリンは$^{14}$C-チロジンの虹彩切片への取り込みに対してはなんら影響しなかった．

**5．フェニレフリンによる$^{14}$C-カテコールアミン生合成の抑制機序についての検討**

フェニレフリンにより$^{14}$C-カテコールアミンの生合成が著しく抑制されたが，その抑制機序について若干の検討を加えた．先ずフェニレフリンが交感神経終末の膜表面に作用するのか，あるいは神経終末内に入ったのち作用するのかを区別するためコカインの存在下でフェニレフリンの抑制効果を検討した．コカインは交感神経終末のアミン輸送系を阻害する薬物であり，フェニレフリンの輸送もまた阻害されるからである．図6に示す如くフェニレフリンによる$^{14}$C-カテコールアミン生合成の抑制はコカイン存在下では殆ど認められなかった．次にウシ虹彩より調製したチロジン水酸化酵素標品を用いて該酵素活性に対するフェニレフリ

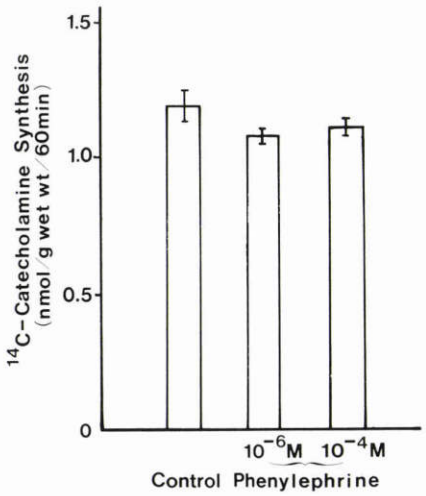


図5　$^{14}$C-ドーパーからのカテコールアミン生合成に対するフェニレフリンの作用

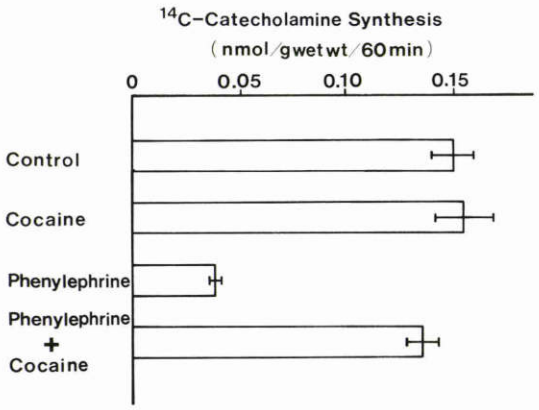


図6　フェニレフリンによるカテコールアミン生合成の抑制に対するコカインの影響．コカイン，$10^{-4}$M；フェニレフリン，$10^{-5}$M.

ンの効果について検討した．図7に示す如くフェニレフリンはチロジン水酸化酵素活性を阻害した．

## IV　考　　按

ウシ虹彩における内在性カテコールアミンは大部分がノルエピネフリンであった．湿重量当りのノルエピネフリンレベルは心臓[18]のそれとほぼ同程度であり，脾臓[18]の約20%，輸精管[19]の約5%であった．これら臓器間におけるアミンレベルの差は各臓器に対する交感神経支配の密度の差によるものであろう．ウシ虹彩にはノルエピネフリンの他に微量ながら湿重量1gあた

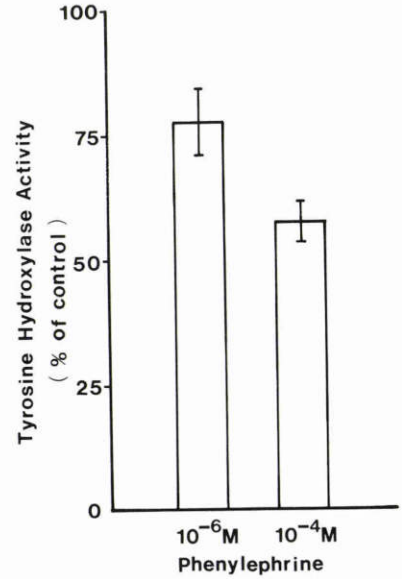


図7　チロジン水酸化酵素活性に対するフェニレフリンの作用

り検出限界の約700倍のドーパミンと約1,000倍のエピネフリンが認められた．ドーパミンはノルエピネフリン生合成の中間代謝産物であると考えることができる．エピネフリンは実際に虹彩において生合成されたものであるか，あるいは副腎で生合成され血中に放出されたエピネフリン（通常の血中レベル1.6～2.7 pmol/ml）[20]が交感神経終末に取り込まれ濃縮されたものであるかどうかは不明である．

ウシ虹彩における$^{14}$C-カテコールアミンの生合成速度は$^{14}$C-チロジンを基質とした場合は0.15±0.01 nmol/g湿重量/時（n=12）であり，$^{14}$C-ドーパーを基質とした場合は1.19±0.06nmol/g湿重量/時（n=5）であった．このことはチロジン→ドーパー→ドーパミン→ノルエピネフリンといった一連のノルエピネフリン生合成過程においてチロジンからドーパーの段階，即ちチロジン水酸化酵素がウシ虹彩においても律速段階であることを示すものである．$^{14}$C-チロジンを基質とした場合1時間で算出される$^{14}$C-ドーパミンの比率は総$^{14}$C-カテコールアミンの約30%を占め，これは一見内在性カテコールアミンに占めるドーパミンの比率よりも著しく高いという印象を与えるが，$^{14}$C-カテコールアミンの生合成はあくまでアミノ産生の速さを検討しているものであることに留意する必要がある．$^{14}$C-チロジンからの$^{14}$C-ノルエピネフリン産生速度と内在性ノルエピネフリン量から虹彩に存在するノル

エピネフリンを産生するに要する時間は15.7時間であり，また，$^{3}$H-ノルエピネフリンを神経終末に取り込ませ，その消失曲線より求められたウサギ虹彩のノルエピネフリン turnover 時間が14.9時間という報告[21]や，ラット心臓では14.3時間であるという報告[21]とほぼ一致する．ウシ虹彩における$^{14}$C-チロジンからの$^{14}$C-カテコールアミン生合成は高濃度 $K^+$やベラトリジン，ウアバインなどの脱分極性薬物により促進された．いずれも交感神経終末を脱分極させることによりカテコールアミン生合成を促進したものと考えられ，in vivo においては神経の興奮に伴ってカテコールアミン生合成が高められる可能性を示唆するものである．ちなみに高濃度 $K^+$，ウアバインは培養ウシ副腎髄質細胞[22]においてカテコールアミン生合成を促進することが知られており，ウアバインはまたラット心臓[23]においてもカテコールアミン生合成を促進することが報告されている．

著者らは眼科領域で使用されるいくつかの自律神経作用薬のウシ虹彩でのカテコールアミン生合成に対する影響について検討を試みた．このうち，$\alpha_1$-アドレナリン性受容体に対するアゴニストであるフェニレフリン，ノルフェネフリンは$^{14}$C-カテコールアミン生合成を強く阻害した．これに対し，$\alpha_2$-アドレナリン性受容体のアゴニストであるクロニジンやオキシメタゾリンは阻害効果を示さなかった．これらの他に $\beta$ 遮断薬であるチモロール，炭酸脱水酵素阻害薬であるアセタゾルアミドも試みたがカテコールアミン生合成に対しなんら影響を与えなかった．$\alpha_1$アゴニストがカテコールアミン生合成を阻害したわけであるが，$\alpha_1$アゴニストがカテコールアミン生合成の場である交感神経終末に直接作用したのか，あるいは瞳孔散大筋の $\alpha_1$受容体を刺激することにより散大筋の収縮を起こし，その二次的な結果としてカテコールアミン生合成を阻害したのか区別する必要がある．しかし，$\alpha_1$受容体の選択的遮断薬であるプラゾシンの存在下においてもフェニレフリンによるカテコールアミン生合成阻害効果は認められたので，後者の可能性は否定される．交感神経終末には $\alpha_2$受容体の存在が考えられておりその刺激はノルエピネフリンの遊離を抑制するというが，著者らの実験では$^{14}$C-カテコールアミンの生合成にはなんら影響を与えなかった．

次にフェニレフリンが交感神経終末の膜表面に作用するのかあるいは交感神経終末に取り込まれてから作用するのかを区別するためにコカインの存在下でフェニレフリンの効果を検討したところ，コカイン存在下ではフェニレフリンの抑制効果は著しく減弱した．コカインは神経終末のアミン輸送系を阻害する薬物であることから当然フェニレフリンの膜輸送をも阻害する．フェニレフリンの取り込みを抑制した状態でフェニレフリンの阻害効果が著しく減弱したことから，フェニレフリンは神経終末内において$^{14}$C-カテコールアミン生合成を抑制したことになる．

フェニレフリンは$^{14}$C-チロジンからの$^{14}$C-カテコールアミン生合成を抑制したが$^{14}$C-ドーパーからの生合成は抑制しなかった．このことはフェニレフリンがなんらかの機序でチロジンからドーパーへの変換を阻害することを意味している．そこでウシ虹彩から調製したチロジン水酸化酵素標品に対するフェニレフリンの作用を検討したところフェニレフリンは酵素活性を阻害することが明らかになった．但しその阻害の程度は虹彩切片における$^{14}$C-カテコールアミン生合成の抑制より軽度であることから，直接チロジン水酸化酵素を阻害する機序の他に間接的な阻害機序の関係も考えられる．即ち交感神経終末のシナプス前 $\alpha_1$受容体を介した機序の存在も否定できない．しかし現在のところ前シナプス部位に $\alpha_1$受容体が存在するか否か不明であり，その選択的遮断薬も知られていない．

本論文の要旨は，第91回日本眼科学会総会にて発表した．

## 文　献


1) **Zinn KM:** The pupil. Springfield, Illinois, Charles C Thomas, 1972.
2) **Ehinger B:** Adrenergic nerves to the eye and to related structures in man and in the cynomolgus monkey (Macacairus). Inv Ophthalmol Vis Sci 5: 42—52, 1966.
3) **Levitt M, Spector S, Sjoerdsma A,** et al: Elucidation of the rate-limiting step in norepinephrine biosynthesis in the perfused guinea-pig heart. J Pharmacol Exp Ther 148: 1—8, 1965.
4) **Gordon R, Reid JVO, Sjoerdsma A,** et al: Increased synthesis of norepinephrine in the rat heart on electrical stimulation of the stellate ganglia. Mol Pharmacol 2: 606—613, 1966.
5) **Rutledge CO, Weiner N:** The effect of reserpine upon the synthesis of norepinephrine in the isolated rabbit heart. J Pharmacol Exp Ther 157: 290—302, 1967.
6) **Dearnaley DP, Geffen LB:** Depletion of the noradrenaline content of the cat's spleen by nerve stimulation. J Physiol 182: 42P, 1965.

7) **Stjärne L, Lishajko F:** Drug-induced inhibition of noradrenaline synthesis in vitro in bovine splenic nerve tissue. Br J Pharmacol 27: 398—404, 1966.

8) **Kopin IJ, Breese GR, Krauss KR,** et al: Selective release of newly synthesized norepinephrine from the cat spleen during sympathetic nerve stimulation. J Pharmacol Exp Ther 161: 271—278, 1968.

9) **Boadle-Biber MC, Hughes J, Roth RH:** Acceleration of noradrenaline biosynthesis in the guinea-pig vas deferens by potassium. Br J Pharmacol 40: 702—720, 1970.

10) **Boadle-Biber MC, Roth RH:** Effect of drugs on the synthesis of noradrenaline in guinea-pig vas deferens. Br J Pharmacol 46: 696—707, 1972.

11) **Thoa NB, Johnson DG, Kopin IJ:** Inhibition of norepinephrine biosynthesis by $\alpha$-methyl amino acids in the guinea-pig vas deferens. J Pharmacol Exp Ther 180: 71—77, 1972.

12) **Taneda M, Izumi F, Oka M:** Effect of dibutyryl adenosine 3′,5′-monophosphate on catecholamine synthesis in rat brain cortical slices and isolated vas deferentia. Jpn J Pharmacol 24: 934—936, 1974.

13) **Buen GP, Field EO:** A colorimetric method for the diagnosis of phaeochromocytoma. Br Med J 2: 1152—1154, 1956.

14) **Oka M, Izumi F:** Effects of cyclic adenosine 3′,5′-monophosphate and its dibutyryl derivaties on catecholamine synthesis in bovine adrenal medullary slices. FEBS Lett 51: 253—256, 1975.

15) **Wada A, Yanagihara N, Izumi F,** et al: Trifluoperazine inhibit $^{45}Ca^{2+}$ up take and catecholamine secretion and synthesis in adrenal medullary cells. J Neurochem 40: 481—486, 1983.

16) **Weiner N, Lee F-L, Dreyer E,** et al: The activation of tyrosine hydroxylase in noradrenergic neurons during acute nerve stimulation. Life Sci 22: 1197—1216, 1978.

17) **Yanagihara N, Tank AW, Weiner N:** Relationship between activation and phosphorylation of tyrosine hydroxylase by 56mM $K^+$ in PC12 cells in culture. Mol Pharmacol 26: 141—147, 1984.

18) **von Euler US:** Noradrenaline. Springfield, Illinois, Charles C Thomas, 1956.

19) **Sjöstrand NO:** The adrenergic innervation of the vas deferens and the accessory male genital glands. Acta Physiol Scand 65(Suppl): 257, 1965.

20) **Anton AH, Sayre DF:** A study of the factors affecting the aluminum oxidetrihydroxyindol procedure for the analysis of catecholamines. J Pharmacol Exp Ther 138: 360—375, 1962.

21) **Cooper JR, Bloom FE, Roth RH:** The Biochemical Basis of Neuropharmacology. New York, Oxford University Press, 143—149, 1982.

22) **Oka M, Isosaki M, Yanagihara N:** in Catecholamines: Basic and Clinical Frontiers (Eds Usdin E, Kopin IJ, Barchas J). Oxford, Pergamon Press, 70—72, 1979.

23) **岡　源郎, 柳原延章, 森田恭二**：カテコールアミン生合成系に及ぼすウアバインの影響について．田辺恒義 編，特定研究「心臓血管系の基礎的研究」報告書，III, 194—199, 1977.

（第91回日眼総会原著）