



Affinities of Adrenergic Drugs for α 2-Adrenoceptors in Dog Saphenous Vein in Comparison with Those in Rat Brain or Human Platelets

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 曾我部, 啓三 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/10271/1333 |

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

| | | | |
|-------|---|---------|-------------|
| 学位記番号 | 医博論第 56号 | 学位授与年月日 | 昭和63年12月23日 |
| 氏 名 | 曾我部 啓 三 | | |
| 論文題目 | <p>Affinities of Adrenergic Drugs for α_2-Adrenoceptors in Dog Saphenous Vein in Comparison with Those in Rat Brain or Human Platelets (犬伏在静脈とラット脳、ヒト血小板の α_2 アドレナリン受容体に対するアドレナリン作働薬の親和性の比較)</p> | | |

論文題目

Affinities of Adrenergic Drugs for α_2 -Adrenoceptors in Dog Saphenous Vein in Comparison with Those in Rat Brain or Human Platelets

(犬伏在静脈とラット脳、ヒト血小板の α_2 アドレナリン受容体に対するアドレナリン作動薬の親和性の比較)

論文の内容の要旨

血管の α_2 アドレナリン受容体を介する収縮反応の特性等に関しては、多くの報告があるものの、血管の α_2 アドレナリン受容体に対する薬物親和性が、他の組織の α_2 受容体に対する親和性と類似しているか否かは十分解明されていない。そこで、摘出犬伏在静脈の α_2 アドレナリン受容体に対する薬物親和性を収縮反応に基づき検討し、これらを標識化合物との結合実験より求めたヒト血小板及びラット脳の α_2 アドレナリン受容体に対する親和性と比較した。また α_2 アドレナリン受容体はin vitroで高及び低親和性の2種の状態が存在するが、血管の α_2 受容体に対する薬物の親和性がどちらの状態により近いかにについてもあわせて検討した。

〔方法〕

犬伏在静脈を摘出後、らせん標本を作製し、95%O₂+5%CO₂で通気した37℃Krebs-Ringer液中に懸垂し、等尺性張力の変化を記録した。血管は α_2 受容体を介する収縮反応を特異的にとり出すため、 α_1 受容体を選択的かつ非可逆的な拮抗剤フェノキシベンザミン50nMで前処理した。薬物の α_2 受容体に対する親和性は拮抗薬の場合、クロニジン(10nM~14 μ M)の累積投与により用量-反応曲線を作成し、洗浄後、各種拮抗薬存在下で再びクロニジンの用量-作用曲線を作成し、その用量-作用曲線の右方シフトから拮抗薬の α_2 受容体に対する親和性(pA₂)を計算した。一方、クロニジン等の作用薬の親和性(pD₂)は作用薬の用量-作用曲線のED₅₀値より算出した。

α_2 アドレナリン受容体におけるRadioligand-binding assayは、リガンドとしてラット脳の場合³H-Yohimbine(YOH)をGTP 100 μ M存在下で用い、 α_2 受容体の低親和性状態を、また³H-Clonidine(CLO)をGTP非存在下で用い高親和性状態を標識した。またヒト血小板の場合³H-YOHをGTP存在下で用いた。飽和結合実験より、各リガンドの α_2 受容体に対する解離定数(K_d)を求めた。各薬物の α_2 受容体に対する親和性(K_i)は、一定濃度のリガンド(³H-YOH 1nM, ³H-CLO 2nM)を用い結合阻害実験を行い、50%阻害濃度を求め、Williamsらの式を用い算出した。

〔結果〕

1. 摘出犬伏在静脈に対する各種薬物の親和性は、典型的な α_2 受容体の特長を示した。即ち、 α_2 受容体を選択性の高いクロニジンのpD₂は7.75と大きな値を示す一方、 α_1 受容体を選択性の高いフェニレフリンのpD₂は5.24であり、親和性に100倍以上の差が認められた。またクロニジンの収縮反応は低濃度のYOH(選択的 α_2 拮抗薬)で競合的に拮抗されたが、プラゾシン(選択的 α_1 拮抗薬)ではほとんど拮抗されなかった。
2. ラット脳において、³H-YOH、³H-CLOは各々単一の結合部位を有し、各々K_d値7.0、2.7nMを示した。³H-YOH結合部位に対する12種類の薬物のpK_i(-log K_i)と摘出血管の α_2 受容体におけるpA₂、pD₂の間にはr=0.76の相関関係が成立したが、³H-CLO結合部位に対するpK_iとpA₂、pD₂の間には良好な相関関係は得られなかった(r=0.21)。
3. ヒト血小板において³H-YOHはK_d値3.4nMを示し、単一の結合部位を標識した。結合阻害実験より求めた各薬物のpK_iと犬伏在静脈におけるpA₂、pD₂の間には、r=0.84と良好な相関関係が成立した。またラット脳の³H-YOH結合部位に対するpK_i値との間にも、r=0.88と良好な相関関係が成立した。

〔結論〕

犬伏在静脈の収縮反応より求めた α_2 受容体に対する薬物親和性とヒト血小板及びラット脳の $^3\text{H}-\text{YOH}$ 結合部位に対する薬物親和性との間に比較的良好な相関関係が得られたことより、血管の α_2 受容体に対する薬物親和性はヒト血小板及びラット脳のそれとよく類似している。一方、血管の α_2 受容体を介する収縮反応より求めた α_2 受容体に対する薬物親和性は、 $^3\text{H}-\text{YOH}$ 結合部位、即ち低親和性状態に対する親和性と相関を示し、 $^3\text{H}-\text{CLO}$ 結合部位、即ち高親和性状態のそれとは良好な相関を示さなかったことより、血管の α_2 受容体を介する収縮反応は、まずはじめに α_2 受容体の低親和性部位への結合を通じ、その作用を生じている可能性がある。

論文審査の結果の要旨

アドレナリン性受容体は、種々のアゴニスト（作用薬）やアンタゴニスト（拮抗薬）に対する感受性の違い等により薬理学的に α_1 、 α_2 、 β_1 、 β_2 受容体に分類されている。最近、これら4種の受容体は、いずれもcDNAあるいは遺伝子DNAの塩基配列から全一次構造が決定された。その結果、これらはアドレナリン、ノルアドレナリンを分子的結合という形で認識し、引き続き細胞膜および細胞内で起こる一連の反応の引き金となるという共通性を持つが、異なる受容体タンパク質であることが明らかとされた。

当初、 α_1 はシナプス後細胞側に存在し、フェニルエフリン>クロニジンという感受性を示す α 受容体、 α_2 はシナプス前部（神経末端）にあってこの逆の親和性を示す受容体として分類された。したがって、 α_2 の主な生理的役割は神経終末からの神経伝達物質ノルアドレナリンの遊離の抑制調節とされていた。しかし、その後 α_2 受容体は大脳皮質、血小板、血管、唾液腺、十二指腸等多くの器官にあり、また脈管組織ではシナプス前部のみならず後細胞側にも存在し、 α_1 受容体と共に血管収縮の調節に関与していることが見出された。従って当初の存在部位による α_1 、 α_2 の分類は必ずしも妥当でないとされるようになった。

この α_2 刺激による血管収縮反応については既に多くの報告がなされているが、血管壁 α_2 受容体の作用薬、拮抗薬に対する親和性の詳細な検討は未だなされていなかった。そこで申請者は、摘出イヌ伏在静脈標品の収縮反応を指標として同受容体の各種薬物に対する親和性を測定し、別に膜標品を用いて標識リガンド結合実験により測定したラット脳およびヒト血小板の α_2 受容体の親和性と比較した。 α_2 受容体を含む一群のGタンパク質活性化型受容体には作用薬に対して高い親和性を示す状態（高親和性部位）と低い親和性を示す状態（低親和性部位）がある。前者はグアニヌクレオチドを結合していないGタンパク質と結合状態にある受容体、後者はGタンパク質から遊離された状態の受容体であり、生体内では高親和性の状態は情報伝達の過程で一過性に生成すると解釈されている。拮抗薬は一般に受容体のこの2つの状態を識別せず、いずれの部位へも同じ親和性で結合する。従って、ラット脳およびヒト血小板膜標品の受容体への標識リガンド結合実験では、それぞれに適した実験条件を与えることにより、作用薬の両部位への結合の親和性が別個に測定された。その結果、収縮反応を指標として求めた摘出イヌ伏在静脈の受容体の各種作用薬、拮抗薬に対する親和性は典型的な α_2 受容体の特長を示した。従って、脈管組織のシナプス後膜側にあり収縮調節にあずかる α_2 受容体が薬理学的に確かに α_2 タイプであることが確認された。更に、収縮反応から求めたこの親和性は、ラット脳およびヒト血小板の α_2 受容体の低親和性部位のそれとは相関を示したが、高親和性部位のそれとは良好な相関を示さなかった。すなわち、血管の α_2 受容体を介する収縮は、ノルアドレナリン、アドレナリンがまず低親和性状態にある α_2 受容体に結合することにより引き起こされることが示唆された。

審査委員会においては、以上の口頭発表の内容と提出された主論文について審議した。その結果、これらは正統的な薬理学的手法および考え方によりなされた優れた研究であると評価された。更に、本研究では血管シナプス後膜側の α_2 受容体の各種作用薬、拮抗薬に対する親和性とその細胞応答としての収縮反応により測定されている点に興味を持たれた。この系は将来神経伝達物質あるいはホルモンと受容体との結合から細胞応答に至る過程の解析に役立つ可能性があるとして評価された。以上により、本研究は学位授与に十分価すると、審査委員全員一致で判定した。

| | | | | | | | | |
|---------|----|----|---|---|----|----|-----|------|
| 論文審査担当者 | 主査 | 教授 | 市 | 山 | 新 | | | |
| | 副査 | 教授 | 藤 | 田 | 道也 | 副査 | 教授 | 山崎 昇 |
| | 副査 | 教授 | 吉 | 見 | 輝也 | 副査 | 助教授 | 寺田 護 |